

**ÜBERBRÜCKUNG PERIPHERER NERVENDEFEKTE MIT
HOMOLOGEN LYOPHILISIERTEN INTERPONANTEN
TIEREXPERIMENTELLE ANWENDUNGEN MIT
LICHTMIKROSKOPISCHER BEURTEILUNG DES
REGENERATIONSERFOLGES**

Gerd Jennerwein

1977

Aus der Neurochirurgischen Klinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof.Dr.med. F. Marguth

und aus

dem Institut für Neuropathologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof.Dr.med.O.Stochdorph

OBERBRÜCKUNG PERIPHERER NERVENDEFEKTE MIT
HOMOLOGEN LYOPHILISIERTEN INTERPONATEN
TIEREXPERIMENTELLE ANWENDUNGEN MIT LICHTMIKRO-
SKOPISCHER BEURTEILUNG DES REGENERATIONSERFOLGES



I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gerd Jennerwein
aus Blieskastel/Saar

München 1977

Die Original-Fotos sind beim Verfasser oder in der Neurochirurgischen
Universitätsklinik München einsehbar

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

1. Referent:	Prof.Dr.med.F. Marguth
2. Referent:	Prof.Dr.med.O. Stochdorph
Dekan:	Prof.Dr.med.W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	15.12.1977



GLIEDERUNG

	Seite
<u>EINLEITUNG</u>	1
<u>ALLGEMEINER TEIL</u>	2
1. Ontogenese	2
2. Zellulärer Aufbau des peripheren Nerven	3
3. Grundlagen der de- und regenerativen Vorgänge nach Nervendurchtrennung (Spontanrestitution)	6
4. Histologische Regenerationsmuster bei verschiedenen Graden der Nervenläsion und in Nerveninterponaten	10
5. Revaskularisation bei Spontanrestitution und in Interponaten	12
<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	14
1. Operative Technik im Tierversuch	14
2. Das homologe lyophilisierte Nerveninterponat	17
Aufbereitung	17
Feinstruktur	17
Immunologisches Verhalten	20
3. Gewinnung, Fixierung und Aufbereitung der reinervierten Interponate für die histologische Untersuchung	21
<u>LICHTMIKROSKOPISCHE ERGEBNISSE</u>	23
1. Nachweis von Zahl, Axonkaliber und Markscheidendicke der regenerierten Nervenfasern im distalen Nervenstumpf	23
2. Modus der Regeneration im Interponat in Beziehung zum Perineurium	33
3. Revaskularisation der Transplantate	40
<u>DISKUSSION</u>	42
<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	47
<u>LITERATUR</u>	48

EINLEITUNG

Die Überbrückung peripherer Nervendefekte durch Nerveninterposition ist immer dann angezeigt, wenn eine spannungsfreie End zu End Vereinigung der Nervenstümpfe nicht möglich ist. Defekte peripherer Nerven ('Neurotmesis' nach der Seddon'schen Einteilung der Nervenschädigungen von 1942) können durch direkte Traumatisierung (Schnitt, Stich, Riß), durch Resektion bei peripheren Nerventumoren (Neurinom, Schwannom etc.), durch Resektion fibrosierter Nervenstümpfe (bzw. Neurome) oder durch Resektion einer älteren fibrosierten Nervennaht entstehen. Unter den vielfältigen, in der Mehrzahl jedoch nur historisch interessierenden Methoden der Nervendefektüberbrückung (z.B.: plasmagefüllte Venen oder Arterien, Metall- oder Kunststoffröhrchen, Glas oder Tantaldrähte, heterologe Nerventransplantate, gestielte Nerven- transplantate, cialitkonservierte Nervenpräparate) hat sich die autologe (autogene) NT am besten bewährt und ist heute die Methode der Wahl. Da jedoch vereinzelt auch über Erfolge mit der homologen Nerveninterposition (homologe lyophilisierte Interponate) berichtet wurde (43, 70), hielten wir eine Überprüfung dieses Verfahrens im Tierexperiment für erforderlich.

ALLGEMEINER TEIL

Ontogenese

Die Anlage des Nervensystems erfolgt als erste äußerlich überhaupt wahrnehmbare Organbildung. Vom 15. Tag p.c. ab, nach erfolgter Eiimplantation (im sog. Trophoblaststadium), bildet sich im Ektoderm des Embryonalschildes, von Chorda - Mesoderm - Material induziert, die Neuralplatte. Durch Wölbung der Neuralplatte entstehen zwei Neuralwülste mit dazwischen liegender Neuralrinne und schließen sich dann zum Neuralrohr. Der kraniale Anteil des Neuralrohres stellt die Gehirnanlage, die kaudale Hälfte den Halsteil des Rückenmarks dar, mit der Fähigkeit weiter kaudalwärts auszuwachsen. Bevor jedoch der Zusammenschluß zum Neuralrohr eintritt, spalten sich dorsal in den Neuralwülsten Neuralleisten ab und in ihnen eine Reihe von Zellgruppen, welche "Ganglienleisten" genannt werden (Kopfganglienleiste und Rumpfganglienleiste). Aus den Zellen der Neuralleiste (sogenanntes 4. Keimblatt, Versuche von Harrison) bilden sich die Ganglien des Gehirns, die Spinalganglien, vegetative Ganglien, chromaffine Zellen, die Zellen des Mesektoderms sowie ein Teil der peripheren Glia (Schwannsche Zellen).

Von der 5. Woche p.c. ab kommt es innerhalb der Zellen des Neuralrohres zur Differenzierung in Neuroblasten und Glioblasten. Durch aktive Assoziation (Versuche von Nakai) sprossen die Nervenzellfortsätze in Plasmagrenzschichten vorwärts, indem sie seitliche Filopodien aussenden und retrahieren. Diese Bewegungen sind möglich durch die in den Neuriten und Dendriten vorkommenden Zytoplasmaströme (29, 62, 63), die auch bei der Regeneration durchtrennter Nervenfasern eine Rolle spielen. Diese Kabelnerven werden teils aus der Neuralleiste, teils aus der Neuralrohrmatrix mit Hüllzellen besetzt, die entlang der Nervenzellfortsätze auswachsen (17). Die Hüllzellen, die sich um den Nerven herum anlagern, separieren die Axone vom umgebenden Gewebe (40, 15). Proliferation und Abspaltung von Zellen des Hüllgewebes (Schwann-Zellen) nach innen führt zur Aufspaltung des Kabelverbandes in pluriaxonale Stränge und durch

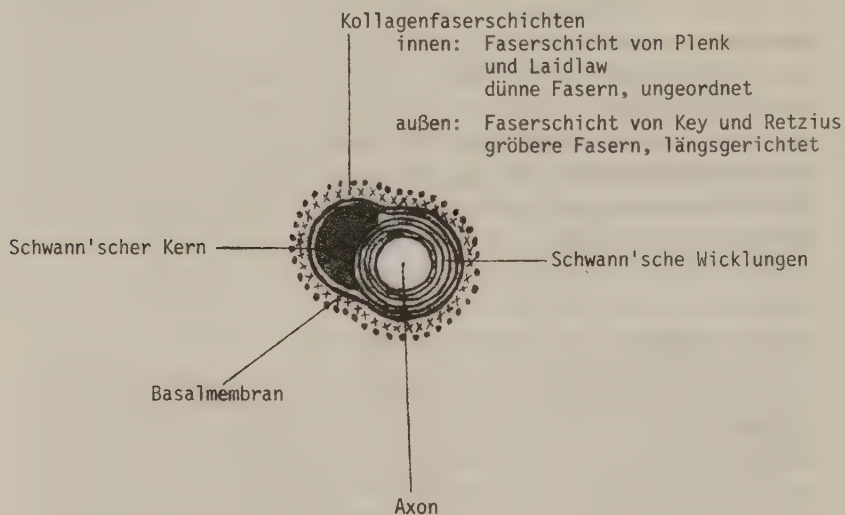
noch weitere Aufspaltung auch in uniaxonale Fasern. Am Ort der ersten Hüllgewebslage differenziert sich das Perineurium mit endothelähnlichen Zellen und Bindegewebslamellen. Fortsätze mit Renaut'schen Zellen (s.u.) gehen auf die gefäßführenden Septen im Inneren des Bündels über (52). Diesen Vorgängen, die sich auf einem frühen Stadium der Ontogenese abspielen, ähneln sehr die Vorgänge bei der Bildung von Regenerationsfaserbündelchen innerhalb autologer und homologer Nerveninterponate, die in den eigenen lichtmikroskopischen Präparaten ebenfalls zu finden sind.

Zellulärer Aufbau eines peripheren Nerven

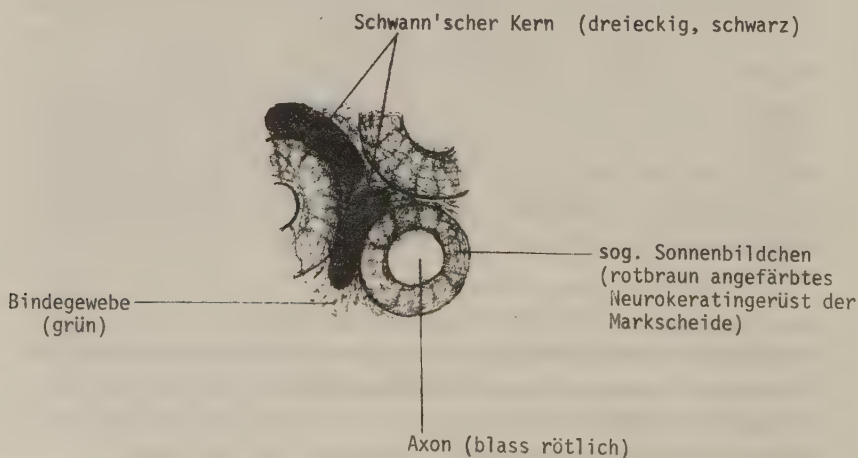
Elektronenmikroskopische Untersuchungen geben ein genaues Bild über den feingeweblichen Aufbau des peripheren Nerven. Demnach sind die Achsenzylinder (Neuriten von Vorderhornzellen oder von Ganglienzellen des Vegetativen Nervensystems und Dendriten von Spinalganglienzellen) teils einzeln (uniaxonaler Fasertyp oder Schwann'scher Fasertyp) von Schwann'schen Zellen umwickelt, teils zu mehreren (pluriaxonaler Fasertyp oder Remak'scher Fasertyp) in die Oberfläche einer Hüllzelle (Schwann'sche Zelle) eingelassen. Die Axone werden bei der uniaxonalen Faser von mehreren Wicklungslagen der Schwann-Zell-Oberfläche umgeben. So entsteht eine mehr oder weniger dicke Markscheide. Das Zytoplasma der Hüllzellen eines Achsenzylinders ist im Bereich der Ranvier'schen Schnürringe innig verzahnt. Die äußere, dem Achsenzylinder abgekehrte Oberfläche der Schwann'schen Zellen wird von einer frisch ausgebildeten Basalmembran umhüllt, die auch über die Einsenkungsnut des Mesaxons frei hinwegzieht. Jenseits der Basalmembran werden die Fasern des Schwann'schen Typs von zwei Schichten Kollagenfasern umhüllt. Diese beiden Kollagenfaserschichten treten auch bei den Fasern vom Rénaud'schen Typ auf, jedoch weniger deutlich (52).

Jedes Nervenfaserbündel enthält mehr oder weniger Fasern des Schwann'schen bzw. des Remak'schen Typs und wird von platten, endothelähnlichen Zellen umhüllt. Diese Zellen bilden eine kontinuierliche, isolierende Scheide, die Perineurium genannt wird. Die Perineuralzellen sind verzahnt und stehen in engem Kontakt miteinander (56). Sie können, je

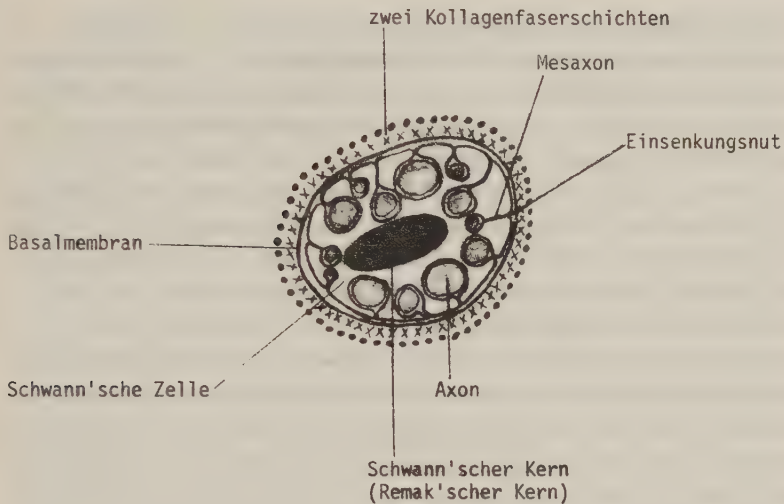
Halbschematische Darstellung einer Nervenfasers vom Schwann'schen Typ im Querschnitt:



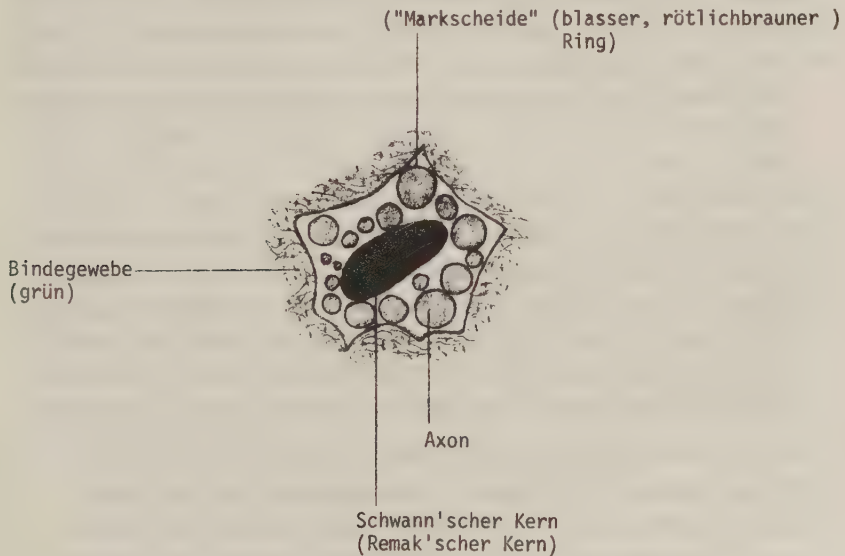
Nervenfasers vom Schwann'schen Typ im Querschnitt, wie sie bei der Markscheidenfärbung nach Goldner lichtmikroskopisch zur Darstellung kommt:



Halbschematische Darstellung von Nervenfasern des Remak'schen Typs im Querschnitt:



Nervenfasern vom Remak'schen Typ im Querschnitt, wie sie bei der Markscheidenfärbung nach Goldner lichtmikroskopisch zur Darstellung kommen:



nach Dicke der umschlossenen Nervenfaserbündel, eine einzelne (bei peripheren Hautnervenästchen - 15) oder mehrere (6 - 7) Zellagen (12) bilden. Die Perineuralzellen sind innen und außen mit Basalmembranen ausgestaltet und werden beiderseits von Kollagenfaserschichten begleitet. Der Binnenraum eines sog. Perineuralrohres wird von der netzartigen Bindegewebsstruktur des Endoneuriums ausgefüllt und enthält eine Vielzahl von Zellformen. Nach P.K. Thomas bestehen 45 % der Zellen aus Schwann'schen und Remak'schen Zellen, 25 % aus Fibroblasten (9, 31, 12, 36). Der Rest besteht aus Kapillar-Endothelzellen, Kapillar-Perizyten und aus undifferenzierten Zellen. Jenseits des Perineuriums schließt sich eine weitere Bindegewebsformation, das sogenannte Epineurium an, das sich in seinem Aufbau wesentlich nach dem Gewebe richtet, das vom Nerven durchquert wird. Nach P.K. Thomas dominieren im Epineurium relativ dicke (700 - 850 Aengström), longitudinal ausgerichtete Kollagenfasern. Daneben gibt es Elastinfasern und Mikrofibrillen. Zellige Bestandteile werden im wesentlichen von Fibrozyten gestellt. Das Endoneurium besteht ebenfalls aus longitudinal ausgerichteten, jedoch schwächeren (500 - 600 Aengström) Kollagenfasern. Auch hier gibt es Mikrofibrillen, jedoch keine Elastinfasern. Um die Nervenfasern und subperineural ist das endoneurale Bindegewebe stärker verdichtet. Diese Erkenntnisse basieren auf elektronenmikroskopischen Untersuchungen und gestatten somit ein besseres Verständnis der lichtmikroskopischen Bilder.

Grundlagen der de- und regenerativen Vorgänge nach Nervendurchtrennung

Die Neuronenlehre (9) besagt, daß die Nervenzelle eine selbständige morphologische und funktionelle Einheit (Neuron) bildet. Jede Nervenfasern bildet mit ihrer Zelle eine genetische und trophische Einheit. Bei Durchtrennung kommt es in allen Abschnitten, sowohl proximal als auch distal der Läsion, zu degenerativen Veränderungen.

Durchtrennt man Axone und die zugehörige Perineuralscheide eines Nerven (Neurotmesis), so kommt es im proximalen Stumpf zur retrograden (aufsteigenden), im distalen Stumpf zur sekundären (absteigenden) Degeneration, die auch, wie allgemein bekannt, als Waller'sche Degeneration bezeichnet wird.

Bei der aufsteigenden Degeneration finden sich lichtmikroskopisch Veränderungen, die bis zum Perikaryon des entsprechenden Neurons reichen. Die Zelle schwillt an, rundet sich ab, der Kern wird randständig und das Ergastoplasma reduziert sich, was als Tigrolyse (Verschwinden der Nissl-Substanz) bezeichnet wird. Der Grad der Tigrolyse richtet sich nach dem Abstand der Läsion vom Perikaryon. Liegt die Läsion sehr nahe am Perikaryon, dann kann es auch zum Zerfall der gesamten Nervenzelle kommen. Ist die aufsteigende Degeneration reversibel, dann erreicht sie in der zweiten bis dritten Woche, wie lichtmikroskopische Untersuchungen zeigen, ihr Maximum. Nur in unmittelbarer Nähe der Läsion (bis zum nächsten Ranvier'schen Schnürring) kommt es auch im proximalen Stumpf zu denselben Veränderungen wie bei der Waller'schen Degeneration (3, 8).

Im Rahmen der Waller'schen Degeneration kommt es zum Abbau der Axonreste und zu degenerativen Markscheidenveränderungen. Diese Veränderungen am abgetrennten Achsenzyylinder bestehen anfangs im Verlust der Fibrillierung, ungleichmäßiger Färbbarkeit, dem Auftreten verschiedener Schwellungen und schließlich in der Fragmentierung. Dabei zerfällt der Achsenzyylinder in krümelige Massen. Nach 2 bis 3 Wochen ist der Achsenzyylinder spurlos verschwunden. Die Veränderungen an der Markscheide machen sich früher bemerkbar. Zunächst kommt es durch Retraktion der Schwann-Zellen zur Erweiterung der Schnürringe, später treten sog. Markballen auf, die nach 2 Wochen ihre höchste Ausbildung erreicht haben und sich mit Osmiumsäure schwarz anfärben lassen (Marchi-Stadium). Darauf folgt der chemische Abbau der Marklipotide zu Neutralfetten, die durch Fettfärbungsmethoden dargestellt werden können (Scharlachrot-Stadium). Der Abbau des Myelins vollzieht sich in den Schwann-Zellen. Danach übernehmen Phagozyten, die aus den Zellen des Endoneuriums und später des Perineuriums hervorgehen, den Abtransport der aus dem Markzerfall stammenden Fettmassen (sog. Gitterzellen). Diese Erscheinungsbilder erstrecken sich bis in die Nervenendorgane (3, 8). Weiss und Wang beschreiben die Fähigkeit der Schwann-Zellen zur Phagozytose und Myelinverdauung. Sie halten darüber

hinaus sogar eine Transformation der Schwann-Zellen in Phagozyten für möglich. Weddell und Glees geben eine exakte lichtmikroskopische Dokumentation über die Degeneration von Hautnerven in den ersten 12 bis 312 Stunden nach Nervendurchtrennung.

Neben diesen geschilderten degenerativen kommt es zu regenerativen und proliferativen Vorgängen sowohl im distalen wie auch im proximalen Stumpf, hier jedoch nur bis in Höhe des nächsten Ranvier'schen Schnürringes. Die Schwann Zellen beginnen sich mitotisch zu teilen und bilden bandartige Ketten, die Hanken-Büngner'schen Bänder. Mit ihrem Aufbau wird die Kontinuität der Faserstrecke wieder hergestellt. Die Hanken-Büngner'schen Bänder bilden die Leitschienen, denen die Axonsprosse folgen können. Wie die Axonsprosse jedoch über die Defektlücke hinweg, die nach der Nervendurchschneidung infolge Retraktion der Endigungen entsteht, in die Hanken-Büngnerschen Bänder des distalen Stumpfes gelangen, soll nun anhand neuerer Erkenntnisse dargelegt werden. Wichtig hierfür ist der Zellauswuchs aus dem proximalen und distalen Stumpf, der von verschiedenen Autoren licht- und elektronenmikroskopisch untersucht worden ist.

Der Zellauswuchs aus dem distalen Stumpf geht schneller voran und ist ein wesentlicher Beitrag zur Defektüberbrückung. Nageotte, Masson, Young vertreten die Meinung, es handle sich dabei vorwiegend um Schwann-Zellen ("Schwannom", "peripheres Gliom"). Denny-Brown dagegen nahm an, daß der Auswuchs mehr aus Fibrozyten des Peri- und Endoneuriums bestünde, Schwann-Zellen kämen erst hinzu, wenn Axone einsproßten. Nach lichtmikroskopischen Untersuchungen von Rexed (1942) wurde der Defekt in den ersten beiden Tagen nach Durchtrennung von Exudat, enthaltend Erythrozyten, Leukozyten und Makrophagen, gefüllt. Kapillaren und Fibroblasten wuchsen dann sofort ein. Vom dritten Tag an waren Schwann-Zellen nachweisbar. Da jedoch die lichtmikroskopische Unterscheidung von Fibroblasten und Schwann-Zellen schwierig ist - Denny-Brown versuchte mit Kernfärbungsmethoden (phosphotungstic acid) zu differenzieren - erbrachten erst elektronenmikroskopische Untersuchungen von Thomas (1966) weitere Klärung. Elektronenmikroskopisch unterscheiden sich Fibroblasten von Schwann-Zellen durch

das Fehlen einer Basalmembran und ein ausgeprägtes endoplasmatisches Retikulum. Der Zellauswuchs aus dem distalen Stumpf besteht danach aus einem irregulären Netzwerk von endoneuralem Kollagen, das ausgefüllt wird von Erythrozyten, Leukozyten, Makrophagen, Fibrinmassen und einsprossenden Kapillaren. Zudem finden sich, mehr in der Peripherie der Wachstumsspitze liegend, zahlreiche Fibroblasten, während das Zentrum von Schwann-Zell-Säulen besetzt ist, die aus den Schwann-Zell-Bändern des distalen Stumpfes herausragen. Der Zellauswuchs aus dem distalen Stumpf sucht nun Anschluß zu gewinnen an den, Axonsprosse enthaltenden, proximalen Auswuchs, das sogenannte "proximale Neurom". Auf diese Weise können durchtrennte Nerven bei relativ kleiner Defektstrecke von sich aus ihre Kontinuität wieder herstellen. Wenn die Regeneration im Bereich der Defektlücke abläuft, werden Schwann-Zell-Gruppen und die ihnen assoziierten Axone von Perineuralzellen umgeben, so daß das Verbindungsstück nun aus zahlreichen kleinen Faszikeln (Miniaturfaszikel) besteht (Masson 1932, Mègeot 1932, Denny-Brown 1946, Terry und Harkin 1957). Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Thomas und Jones (1967) bestätigen diese Befunde und weisen auf die Ähnlichkeit zwischen Perineuralzellen und Fibroblasten hin, deren Bedeutung bei der Regeneration Denny-Brown schon 1946 ausgiebig beschrieben hat. Die regenerierten Faszikel bleiben immer erheblich dünner als die ursprünglichen Faszikel, auch noch Jahrzehnte nach der Durchtrennung (Krücke). Außerdem besitzen sie keine endoneuralen Gefäße, so daß ihr Stoffwechsel immer durch die Diffusionsbarriere eines meist nur einschichtigen Perineuriums erfolgen muß.

Im Gegensatz zu dem soeben beschriebenen Regenerationsmodus in dem die Defektlücke überbrückenden Nervennarbengewebe, bei dem es zur Bildung ungeordneter Miniaturfaszikel extrafaszikulär - meist im epineuralen Bindegewebe - kommt, steht die geordnete Regeneration im distalen Stumpf. Hier hat der Nerv den normalen Aufbau seiner strukturgebenden Membranen erhalten, die Zellen des Nervenbegleitgewebes bestehen auf Grund einer intakten Gefäßversorgung fort, lediglich die Axonreste wurden abgebaut und von den zugehörigen Schwann-Zellen resorbiert (s.o.), die sich danach

innerhalb ihrer Basalmembrantuben mitotisch teilten, so die Hanken-Büngner'schen Bänder bildend, die die neuen Axonsprosse optimal aufnehmen können, sofern es diesen gelingt, die Nervennarbe zu überwinden.

Insgesamt zeigen die Erkenntnisse über die Spontanrestitution, daß der Organismus, ähnlich wie bei der Nervenentwicklung, bemüht ist, die funktionelle und anatomische Einheit des Nervenfaszikels wiederherzustellen, wenn auch nur in Form von Miniaturfaszikeln. Da die Ergebnisse der Spontanrestitution jedoch unzureichend sind, aufgrund einer zu großen Distanz, durch irreguläre Narbenbildung, Aberration von Axonsprossen, durch Fremdkörper und Entzündung, wurde auf dem Gebiet der Neurochirurgie versucht durch Nervennaht und später durch Nerveninterposition, den Defekt besser zu überbrücken und die Narbenbildung so gering wie möglich zu halten.

Regenerationsmuster bei verschiedenen Graden der Nervenläsion und in Nerveninterponaten

Nach Krücke ist für eine funktionell ausreichende Regeneration das Erhaltenbleiben möglichst vieler Membranen des peripheren Nerven wichtig. Dazu gehören, 1. das Perineurium, dessen Wirkung als Diffusionsbarriere von Olsson und Reese (1969) und von Klemm (1971) bewiesen wurde, 2. die Blutnervenschränken (Doinikow 1913, Olsson und Reese 1970), 3. die Basalmembranen und 4. die Markscheiden, die die Axone als Isolator begleiten und nur an den Ranvier'schen Schnürringen freigeben und damit die Bedingung für eine saltatorische Erregungsleitung (22) schaffen.

Bleiben diese Membranen alle intakt und kommt es lediglich zur Kontinuitätsunterbrechung der Axone (Axonotmesis, z.B. durch Kompression), so erfolgt die sog. intrafaszikuläre Regeneration, nach Hiller (1949) auch isomorphe Neurotisation genannt, wie sie in den Büngner'schen Bändern des Endoneuriums überlebender Faszikel nach Nervendurchschneidung auch im distalen Stumpf auftritt (48). Die isomorphe Neurotisation stellt nach Krücke den Idealfall der Regeneration dar.

Bleibt lediglich das Perineurium erhalten und sind Axone und endoneurale Architektonik unterbrochen, so kommt es ebenfalls zur intrafaszikulären Regeneration, jedoch mit Neuombildung, was Hiller (1949) als heteromorphe oder neuromatöse Neurotisation bezeichnete.

Ist jedoch auch das Perineurium partiell oder total unterbrochen, so kommt es zur extrafaszikulären Neurotisation, mit der Bildung von Miniaturfaszikeln in der Nervennarbe oder im Epineurium. Diese Vorgänge finden wir bei Spontanheilungen, wie vorher schon beschrieben.

Da die Spontanheilung im günstigsten Falle über eine unzureichende extrafaszikuläre Neurotisation erfolgt, versuchte man immer wieder, die Kontinuität der Membranen durch End zu End Naht bzw. durch Nerveninterposition wiederherzustellen. Ziel war, eine neuromatöse oder eine isomorphe Neurotisation zu erreichen.

Hierbei wurden autogene=autologe (35, 45) und allogene-homologe, cialit-konservierte (2) oder lyophilisierte Nerveninterponate verwendet.

Schröder und Seiffert (1970) untersuchten lichtmikroskopisch autogene sowie frische und konservierte allogene Interponate. Sie fanden einen Großteil der regenerierten Nervenfasern, mit einem differenzierten endo- und perineuralen Gewebe ausgestattet, in kleinen Faszikeln liegend. Sowohl bei autogenen als auch bei allogenen Interponaten konnten auch erhaltene bzw. restituierte große Faszikel nachgewiesen werden, die neurotisiert waren.

Krücke stellte 1972 zur Bewertung des anatomischen Regenerationserfolges einer Nerventransplantation folgende Kriterien auf:

1. Zahl, Axonkaliber und Markscheidendicke der regenerierten Nervenfasern im distalen Abschnitt
2. Modus der Regeneration im Transplantat in Beziehung zum Perineurium
 - a) Intrafaszikuläre Neurotisation - isomorph oder neuromatös bei erhaltenem oder restituiertem Perineurium der alten Faszikel
 - b) Extrafaszikuläre Neurotisation mit Neubildung von Miniaturfaszikeln im epineuralen Bindegewebe bei Kollagenisierung und fehlendem Perineurium der alten Primärfaszikel

- c) Regeneration von Einzelfasern intra- und extrafaszikulär ohne regeneriertes Perineurium
- 3. Revaskularisation der Transplantate
 - a) Restitution der endoneuralen Kapillararchitektonik im erhaltenen Faszikel
 - b) Restitution der Kapillaren im regenerierten Faszikel
 - c) Fehlen der Kapillaren im regenerierten Miniaturfaszikel

Dabei ist als optimale Regeneration eine Restitutio ad integrum nicht erreichbar. Nach Krücke wird die teils isomorphe, teils neuromatöse intrafaszikuläre Neurotisation mit Restitution des Perineuriums und einer endoneuralen Kapillararchitektonik, als günstigstes Ergebnis angesehen. An Hand dieses optimalen Zustandes soll die Beurteilung des im einzelnen Falle erzielten experimentellen Ergebnisses erfolgen.

Revaskularisation bei Spontanrestitution und in Interponaten

Trotz der häufig reichlichen Vaskularisation von proximalen Neuomen und Nervennarben besteht nach Krücke bei der 'parafaszikulären Anordnung' der Kapillaren um die Miniaturfaszikel ein großer Unterschied zu der 'endoneuralen Vaskularisation' gesunder Faszikel. Diese endoneurale Vaskularisation würde sich auch in erhaltenen Faszikeln bei autologen Transplantaten finden.

Diffusionsbarrieren für die Ernährung der Schwann'schen Zellen sind somit: 1. Blutnervenschränken, 2. Basalmembranen.

Bei den restituierten Faszikeln konservierter homologer (hier können die großen Faszikel immer nur restituierte, keine erhaltenen Faszikel sein) und auch bei autologen Transplantaten, also bei peri- oder interfazzikulärer Vaskularisation, ergibt sich folgende Reihenfolge: 1. Blutnervenschränken, 2. Perineurium, 3. Basalmembranen und Markscheiden.

Restituierte große Faszikel setzen sich insbesondere bei homologen lyophilisierten Interponaten immer aus Gruppen von Miniaturfaszikeln zusammen (53).

Nach W.E. Adams (1941) erfolgt die Blutversorgung des peripheren Nerven durch die Vasa nervorum (siehe auch 21, 41). Diese bestehen einerseits aus zahlreichen regionalen Gefäßen, die einzeln an den Nerven herantreten, sich in einen Ramus ascendens und einen Ramus descendens teilen, in das Endoneurium eindringen, um hier mit dem longitudinalen Gefäßpfad andererseits zahlreiche Anastomosen zu bilden. Der Großteil der Versorgung geschieht dabei über die regionalen Zubringer, was in Hinsicht auf die Tubulisation von Nervennahtstellen von Interesse sein dürfte. Neuere histochemische Darstellungen der endoneuralen Kapillararchitektur sind von Thomas, E. (1969) unternommen worden. Eine Beibehaltung der ursprünglichen endoneuralen Kapillararchitektur innerhalb erhaltender Faszikel bei autologer Nerventransplantation ist aus hämodynamischer Sicht unmöglich, da dann eine Naht zumindest des longitudinalen Gefäßpfades erfolgen müßte, um eine minimale Perfusion des autochthonen Kapillarsystems zu gewährleisten und eine Obliteration zu verhindern, bis neue regionale Zubringergefäße eingesprosst sind.

Die restituierte endoneurale Kapillararchitektur innerhalb erhaltener Faszikel autologer Transplantate, wie sie von Krücke als optimal bezeichnet wird (Punkt 3 a der Beurteilungskriterien s.o.) weist (54) Gefäße von erheblich kleinerem Kaliber auf.

MATERIAL UND METHODEN

Operative Technik im Tierversuch

In Nembutal-Narkose (0,2 g pro 1/2 kg) und Intubation wurde der linke Hinterlauf (Hund) nach vorne gezogen und fixiert, wodurch eine Beugung im Hüftgelenk und eine maximale Streckung des N.ischiadicus erreicht wurde. Unter sterilem operativem Vorgehen erfolgte der Hautschnitt zwischen Trochanter major und Tuber ischiadicum parallel zum Femur in einer Länge von mindestens 6 cm. Nach Auseinanderdrängen des Subcutangewebes und Auffinden der Muskelrinne zwischen M.vastus lat. und Caput longum des M.biceps femoris stellte sich nach stumpfen Vorgehen mit dem Stiltupfer der Nervus ischiadicus auf dem Adductor magnus und M.quadratus femoris liegend dar. Nun wurde der Nerv vorsichtig aus seinem Bett luxiert und oberhalb der Gabelung mit einer an einer Kocherklemme befestigten Rasierklinge scharf durchtrennt und in verschiedener Ausdehnung nach cranial hin reseziert, wobei auf plane Schnittflächen geachtet wurde. Die Defektlücke wurde durch die Retraktion der Stümpfe noch erheblich vergrößert. Nach Ausmessen der Defektlücke wurde aus einem sterilisierten Sortiment homologer, lyophilisierter Interponate ein dem Querschnitt und der Länge des Defektes entsprechendes Präperat ausgesucht. Um eine postoperative Spannung zu verhindern, wurden alle eingesetzten Interponate etwas länger als die Defektlücke ausgewählt. Die Fixation erfolgte mit 2 bis 3 Epineuralnähte proximal und distal (atraumatisches Mersilene-Stärke 6x0), wobei auf exakte Adaptation der Querschnitte und Zuordnung der Faszikel geachtet wurde. Auf eine Tubulisation mit lyophilisierter Dura wurde verzichtet. Nach Rehydratation mit physiolog. Kochsalzlösung wurde die Wunde schichtweise verschlossen. Eine Schienung ließ sich technisch nicht durchführen.

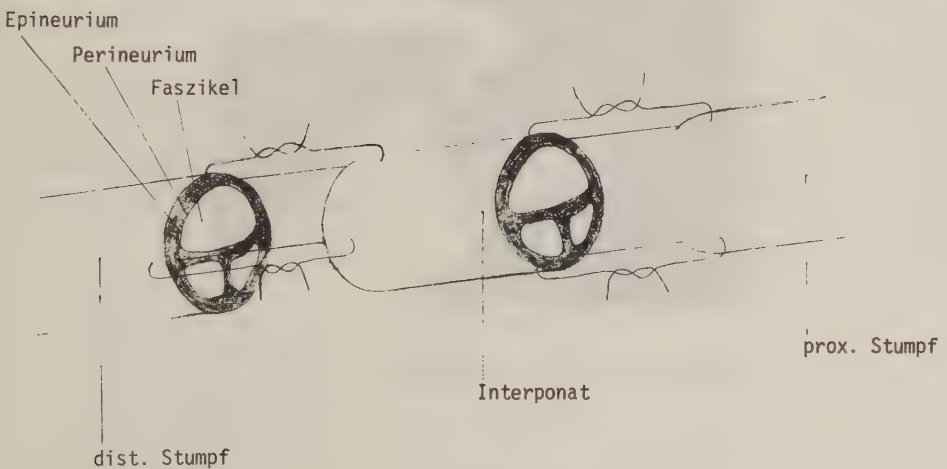
Der postoperative Verlauf war bei den fünf Versuchen komplikationslos. Am 10. Tag wurden diese Tiere in den Freistall entlassen.

	Versuchs- dauer		Interponat- länge	Interponat- querschnitt	atraumat. Epineuralnähte
1. Hund	15	Monate	-	-	3
2. Hund	10	Monate	2 cm	kalibergleich 1 Interponat	3 prox. 3 dist.
3. Hund	3,5	Monate	4,5 cm	kalibergleich 1 Interponat	2 prox. 2 dist.
4. Hund	5	Monate	4,5 cm	kalibergleich 1 Interponat	3 prox. 3 dist.
5. Hund	9	Monate	4,5 cm	kalibergleich 2 Interponate	3 prox. 3 dist.

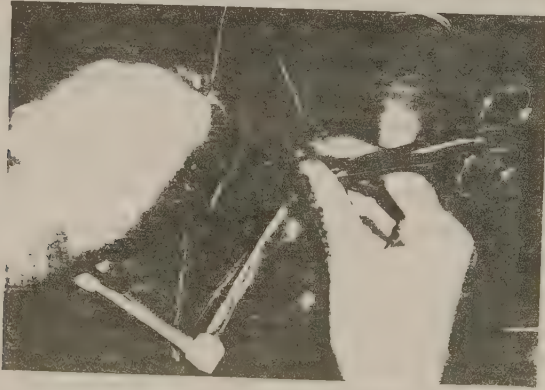
Schaubild zur Nahttechnik

wichtige Gesichtspunkte:

1. plane Schnittflächen
2. gleiche Durchmesser von Stumpf und Interponat
3. Zuordnung der Faszikelgruppen in den Stümpfen und im Interponat
4. Spannungsfreiheit



Operationsphotos der Nerventransplantation bei Hund Nr. 2



Nervus ischiadicus freigelegt



Interponat von 2 cm Länge eingesetzt

Das homologe, lyophilisierte Nerveninterponat

Aufbereitung:

Biochemische Analysen der peripheren Nervensubstanz nach J. Schnell ergeben folgende Zusammensetzung:

Lipide (Phosphatide, Cholesterin, Cerebroside, Shingomyeline)

68,5 ± 7,4 Gew.% bezogen auf Trockengewicht

Protein 20,6 ± 11,4 Gew.% bezogen auf Trockengewicht

Die experimentelle Abteilung der Firma Braun/Melsungen hat zur Aufbereitung homologer, lyophilisierter Nerveninterponate ein eigenes Lipid- und Protein-Extraktionsverfahren entwickelt.

1. Entnahme des Nerven spätestens 24 h post mortem
2. Eingabe in konservierende, nicht denaturierende Salzlösung und anschließende Waschung mit 0,9 % NaCl-Lösung zur Entfernung löslicher Proteine
3. Oxidativ wirkende Chemikalien (Art nicht angegeben) zur Abschwächung der Antigenität
4. Lipoid-Extraktion mit organischen Lösungsmitteln
5. Lyophilisation zur Strukturauflockerung
6. Sterilisation mit Gammastrahlen (2,5 Mrad)

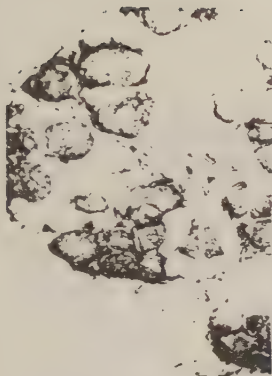
Das Produkt ist ein aus homologem Bindegewebe bestehendes Präperat (biochemisch ein mit nicht löslichen Lipiden verunreinigtes Protein), das durch seine räumliche Struktur den rasch aussprossenden Nervenfasern als Leitschiene dient.

Feinstruktur:

Was die Feinstruktur des lyophilisierten Nerven betrifft, sei auf die ausführlichen Arbeiten von R. Wetzstein und St. Schulte-Wrede (67) verwiesen. Nach dem Konservierungsverfahren ist demnach das bindegewebige

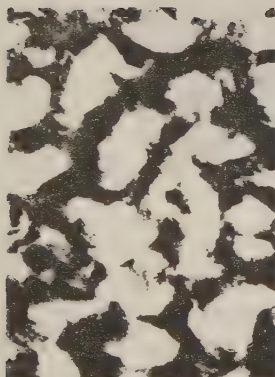
Gerüst der Endoneuralscheiden grobstrukturell sehr gut erhalten. Die endoneuralen Tunnel sind unbegrenzt durchgängig. Zudem bestehen intra- und interfazikuläre Spalträume, die ebenfalls, wie das endoneurale Netzwerk, einen Weg für die aussprossenden Axone samt ihrem Begleitgewebe bieten.

Siehe Histophotos nächste Seite!



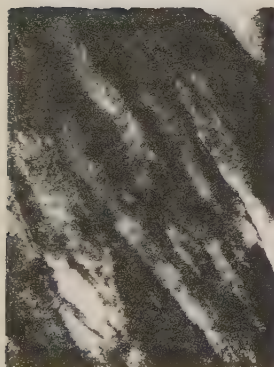
Lyophilisiertes Nerveninterponat (quer)
Vergrößerung: 10-fach

Zur Darstellung kommt das Stützkollagen
der einzelnen Faszikelgruppen mit inter-
und intrafaszikulären Spalträumen



Lyophilisiertes Nerveninterponat (quer)
Vergrößerung: 200-fach

Endoneurales Netzwerk, wobei die dunkleren
Bereiche Lipidreste, die hellen Bereiche
des Netzwerkes kollagenes Bindegewebe dar-
stellen (Färbung nach Goldner)



Lyophilisiertes Nerveninterponat (längs)
Vergrößerung: 200-fach

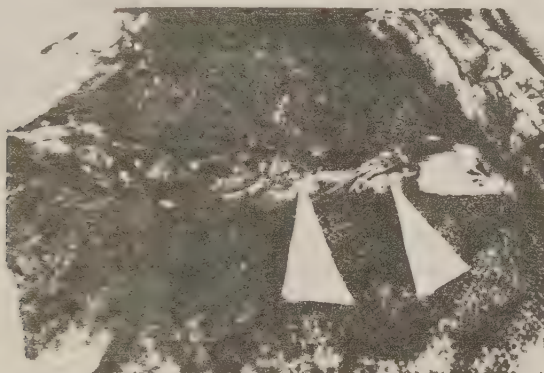
Endoneurale Tunnel, wobei die Längsorien-
tierung des kollagenen Bindegewebes deut-
lich zu erkennen ist.

Immunologisches Verhalten:

Nähere immunologische Untersuchungen über die verwendeten lyophilisierten Nerveninterponate liegen nicht vor. Bei allen Arbeitsgruppen, die dieses Interponat verwendet haben und auch bei den eigenen Untersuchungen wurde keine Abstoßungsreaktion ("Homograftreaktion") beobachtet. Auch D.W. van Bekkum und B.D. Verhoog fanden keinerlei Abstoßungsreaktion, wenn sie auf - 192 Grad Celsius gefrorene frische homologe Nerveninterponate verwendeten. Sie schlossen daraus, daß die im frischen homologen Transplantat anwesenden lebenden Zellen für die Immunantwort verantwortlich zu machen seien. Die Zerstörung sämtlicher lebender Zellen, das Herauslösen von homologen Lipid und Protein und der Versuch der Antigenizitätsabschwächung verbleibender Proteine durch aggressive Oxidantien zusammen mit der Lyophilisation führt zu einem aus totem homologen Bindegewebe bestehendem Interponat, das zumindest im Tierexperiment keine Immunantwort des Empfängers mehr hervorruft.

Gewinnung, Fixierung und Aufbereitung der reinnervierten Interponate
für die histologische Untersuchung

Operationsphoto eines reinnervierten Interponates (Hund Nr. 2, Länge: 2 cm)
nach 10 Monaten (vor der Entnahme!)
Nahtstellen durch Pfeile gekennzeichnet.



In allen Fällen wurden die Nerven nach entsprechender Zeit (s. obige Tabelle) ca. 2 cm vor bis 2 cm hinter den an den Fäden erkennbaren Nahtstellen (s. Operationsphoto) in toto excidiert und leicht gestreckt per immersionem in 4 % Glutaraldehyd, gepuffert mit 0,1 molarem Phosphatpuffer nach Soerensen (ph 7) bei Zimmertemperatur fixiert.

Nach frühestens 48 h wurden die Präparate exakt in Serien kleiner Blöcke zerlegt, im Autotechnikon in der aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und schließlich in Paraffin eingebettet. Danach wurden nach folgendem Schema mit dem Paraffinschnittmikrotom der Firma Jung Serien-Dünnschnitte (Schnittdicke 5 - 10 mü) hergestellt.

	2 cm prox.	prox. Nahtst.	Mitte Interponat	dist. Nahtst.	2 cm dist.
quer	3	3	3	3	3
längs	3	3	3	3	3
-					

Die somit in jeder Höhe 3-fach vorhandenen Schnitte wurden auf Objektträger aufgezogen und nach v. Gieson, mit Hämatoxilin-Eosin und der Spezial-Markscheidenfärbung nach Goldner (Trichromfärbung) angefärbt.

Nach Goldner erscheinen dabei die Zellkerne braun-schwarz, das Zytoplasma (auch Axone und Markscheiden) schwach orange bis rot-braun, die Erythrozyten hell-rot, Muskel- und Granulationsgewebe blaß-rot und das Bindegewebe grün.

Von den wichtigsten histologischen Präparaten wurden mit dem Photomikroskop der Firma Carl-Zeiss Dia-Serien zur Dokumentation hergestellt.

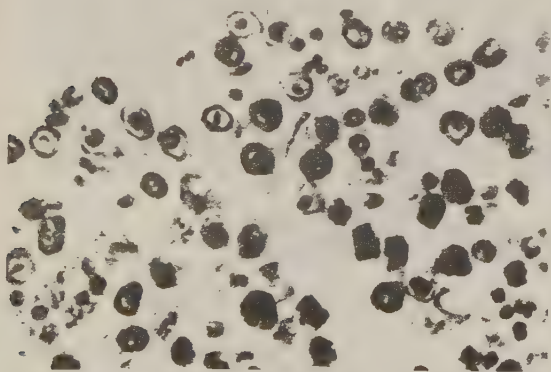
LICHTMIKROSKOPISCHE ERGEBNISSE

Nachweis von Zahl, Axonkaliber und Markscheidendicke der regenerierten Nervenfasern im distalen Abschnitt (Punkt 1 nach Krücke)

Nach einem in Anlehnung an Schröder entwickeltem und von Samii ebenfalls angewandten Verfahren läßt sich mit dem Leitz-Classimat, einem Gerät zur optischen Bilddatenerfassung, die Gesamtfasikelfläche und damit die Zahl der markhaltigen Nervenfasern in proximalen wie in distalen Querschnitten zum Vergleich ermitteln. Da uns ein solches Gerät nicht zur Verfügung stand und auch unsere Färbemethode (Trichromfärbung nach Goldner) im Gegensatz zur allgemein angewandten Osmiumfärbung wegen zu großer Fixierungs- und Färbungsartefakte (Schrumpfung) ein exaktes Ausmessen der Axon-Markscheiden-Relation von proximal nach distal nicht zuließ, wurden Histophotos in der Folge: proximal, Interponat, distal angeführt, um so eine optische Beurteilung von Zahl, Axonkaliber und Markscheidendicke der regenerierten Nervenfasern im distalen Abschnitt zu ermöglichen. Dabei waren Vergrößerung und Maße des Bildausschnittes der einzelnen Photoserien immer gleich.

Versuch A: Interponat 2 cm lang/Versuchsdauer 10 Mon.

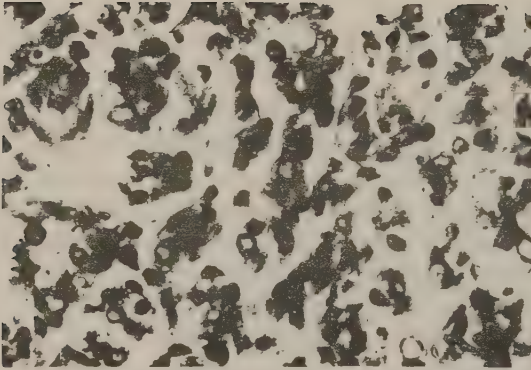
I



Querschnitt 2 cm
prox. des Interponats
Vergr.: 200-fach

Befund: normale Nervenstrukturen
zahlreiche Nervenfaserschnitte (Schwann'scher u. Remak'scher Fasertyp) nach dem normalen Faserdurchmesserspektrum (A-Fasern: 3-20 μ m, B-Fasern: bis 3 μ m, C-Fasern: 1 μ m - nach Leonhardt)
normale Axon-Markscheiden-Relationen
keine degenerativen Veränderungen
intrafasikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

II

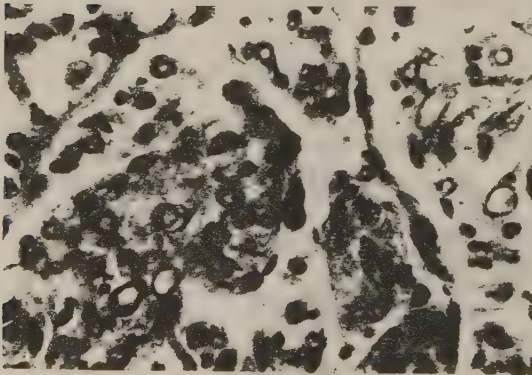


Querschnitt im
Bereich der prox.
Nahtstelle

Vergr.: 200-fach

Befund: zahlreiche Nervenfaserverquerschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum (A-Fasern, B-Fasern, C-Fasern)
Axon-Markscheiden-Relation zugunsten der Axone
keine fibrotischen Veränderungen oder sonstige mesenchymale
Reaktion
intrafaszikuläre neuromatöse (heteromorphe) Neurotisation mit
Bildung dicht beieinanderliegender, längsorientierter Minia-
turfaszikelgruppen

III

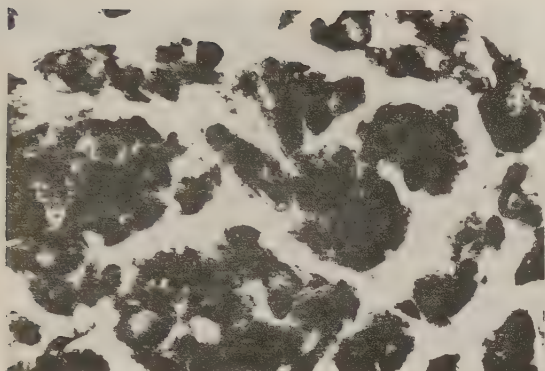


Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte

Vergr.: 200-fach

Befund: typischer Aufbau eines ausgezeichnet reinnervierten homologen
lyophilisierten Nerveninterponates
massenhaft Nervenfaserverquerschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
Axon-Markscheiden-Relation zugunsten der Axone
keinerlei fibrotische Veränderungen oder sonstige mesenchyma-
le Reaktionen
intrafaszikuläre neuromatöse (heteromorphe) Neurotisation
inter- und perifaszikuläre Vaskularisation der Miniaturfaszi-
kelgruppen innerhalb eines restituierten Ursprungsfaszikels

IV



Querschnitt im
Bereich der dist.
Nahtstelle

Vergr.: 200-fach

Befund: zahlreiche Nervenfaserverquerschnitte nach dem normalen
Faserdurchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
Axon-Markscheiden-Relation zugunsten der Axone
keine fibrotischen Veränderungen oder sonstige mesen-
chymale Reaktionen
intrafaszikuläre neuromatöse Neurotisation
inter- und periafaszikuläre Vaskularisation

V



Querschnitt 2 cm
dist. des Interponats

Vergr.: 200-fach

Befund: normale Nervenstrukturen
massenhaft Nervenfaserverquerschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
normale Axon-Markscheiden-Relation (siehe I)
keine fibrotischen Veränderungen oder sonstige mesenchymale
Reaktionen
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation innerhalb der in
ihrem strukturellen Aufbau erhaltenen ursprünglichen Faszikel
endoneurale Vaskularisation

Versuch B: Interponat 4,5 cm lang/Versuchsdauer 9 Monate

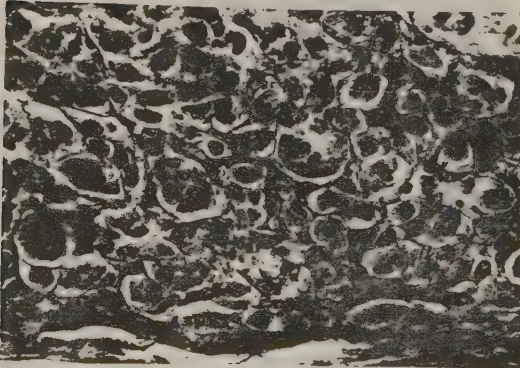
I



Querschnitt 2 cm
prox. des Interponats
Vergr.: 80-fach

Befund: normale Nervenstrukturen (wegen zu starker Schnittdicke und
Oberfärbung nur 80-fache Vergrößerung möglich)
zahlreiche Nervenfaserschnitte nach dem normalen
Faserquerschnittsspektrum (A-, B-, C-Fasern)
normale Axon-Markscheiden-Relation
keine degenerativen Veränderungen
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

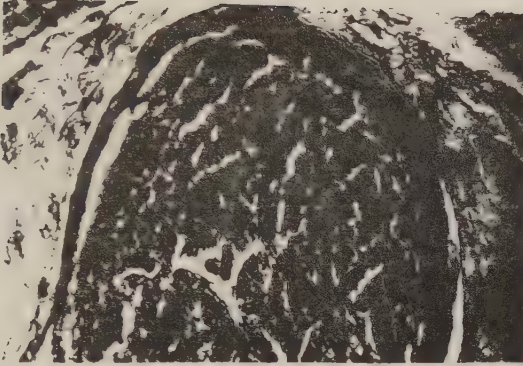
II



Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte
Vergr.: 80-fach

Befund: typischer Aufbau eines gut reinnervierten homologen lyophili-
sierten Nerveninterponats
zahlreiche Nervenfaserschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum
Axon-Markscheiden-Relation zugunsten der Axone
keine fibrotischen Veränderungen oder sonstige mesenchymale
Reaktionen
intrafaszikuläre neuromatöse (heteromorphe) Neurotisation mit
dichtgedrängten, longitudinal ausgerichteten Miniaturfaszikel-
gruppen innerhalb der restituierten Ursprungsfaszikel
inter- und perifaszikuläre Vaskularisation

III

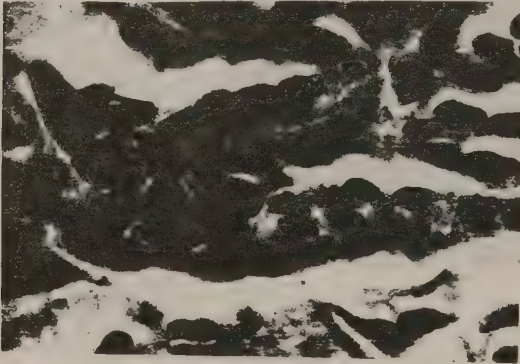


Querschnitt 2 cm
dist. des Interponats
Vergr.: 80-fach

Befund: normale Nervenstrukturen - sehr gut reinnerviertes distales Segment (wegen zu starker Schnittdicke und Überfärbung nur 80-fache Vergrößerung möglich)
massenhaft Nervenfaserverquerschnitte nach dem normalen Faserdurchmesserspektrum
normale Axon-Markscheiden-Relationen
keine fibrotischen Veränderungen oder sonstige mesenchymale Reaktionen
intrafaszikuläre isomorphe Nervenotisation innerhalb der in ihrem strukturellen Aufbau erhaltenen ursprünglichen Faszikel
endoneurale Vaskularisation

Versuch C: Interponat 4,5 cm lang/Versuchsdauer 5 Monate

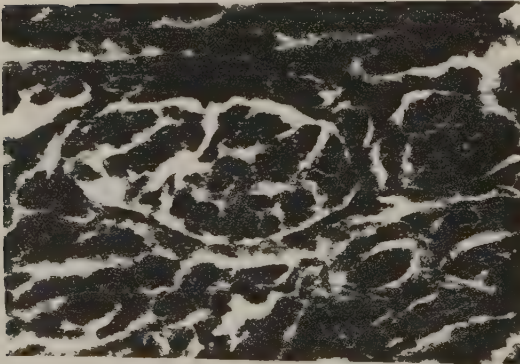
I



Querschnitt 2 cm
prox. des Interponats
Vergr.: 200-fach

Befund: normale Nervenstrukturen
zahlreiche Nervenfaserquerschnitte vor allem stark ummarkte
A- und B-Fasern (typische Sonnenbildchen)
normale Axon-Markscheiden-Relationen
keine degenerativen Veränderungen
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

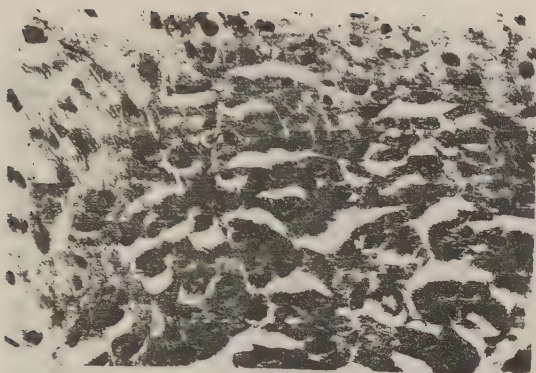
II



Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte
Vergr.: 200-fach

Befund: starke "Verholzung" (Fibrosierung) des Interponats
wenig Nervenfaserquerschnitte
Nervenfaserdurchmesser dünner als proximal
Axon-Markscheiden-Relation zugunsten der Axone
häufig Schaumzellen und Makrophagen (wahrscheinlich bedingt durch
Elektroden, die an den Nerven angelegt worden waren)
spärliche extrafaszikuläre Neurotisation in Form von Miniatur-
faszikeln

III

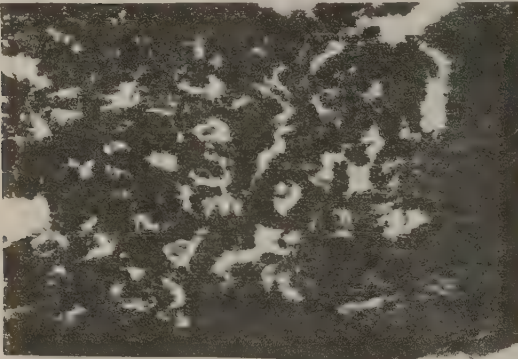


Querschnitt 2 cm
dist. des Interponats
Vergr.: 200-fach

Befund: Fibrosierung des distalen Segments
massive Kollagenfaserbildung um die Hanken-Büngner'schen Bänder
vereinzelt Nervenfaserschnitte
Nervenfaserdurchmesser geringer als proximal und im Interponat-
bereich
unausgereifte Markscheiden
spärliche intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
Fibrosierung des Interponats und des distalen Segmentes, wahr-
scheinlich bedingt durch die Unruhe des Versuchstieres und die
damit verbundene Überdehnung und Nahtspannung

Versuch D: Interponat 4,5 cm lang/Versuchsdauer 3,5 Monate

I

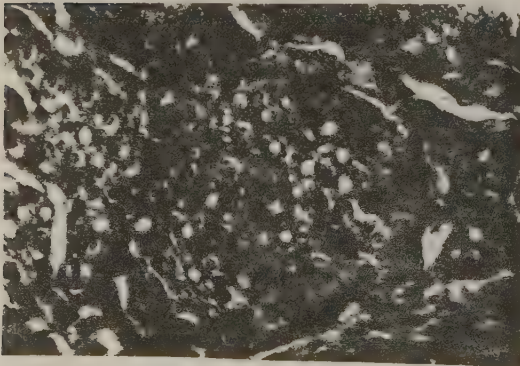


Querschnitt 2 cm
proximal des Inter-
ponats

Vergr.: 200-fach

Befund: normale Nervenstrukturen (starke Schnittdicke und Überfärbung, daher im Photo schwer, direkt unter dem Mikroskop besser, zu beurteilen!)
zahlreiche Nervenfaserverquerschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
normale Axon-Markscheiden-Relationen
keine degenerativen Veränderungen
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

II

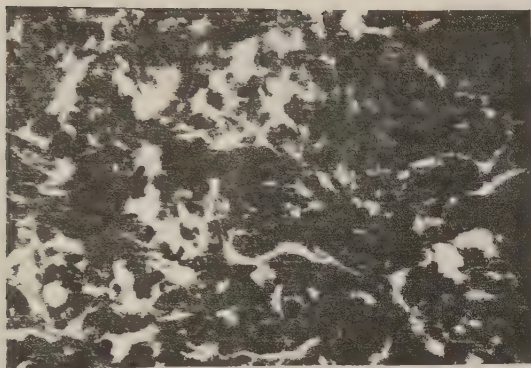


Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte

Vergr.: 200-fach

Befund: nicht voll reinnerviertes Interponat
wenig Nervenfaserverquerschnitte
Nervenfaserdurchmesser geringer als proximal
Entwicklungsrückstand der Markscheiden, Axon-Markscheiden-
Relation zugunsten der Axone
spärliche extrafaszikuläre Neurotisation in Form von
Miniaturfaszikeln
peri- und interfaszikuläre Vaskularisation

III



Querschnitt 2 cm
dist. des Interponats
Vergr.: 200-fach

Befund: spärlich reinnerviertes distales Segment
wenig Nervenfaserschnitte
Nervenfaserdurchmesser geringer als im Interponat und proximal
Entwicklungsrückstand der Markscheiden, Axon-Markscheiden-
Relation zugunsten der Axone
spärliche intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
häufig noch leere Hanken-Büngner'sche Bänder
endoneurale Vaskularisation

Versuch E: Primärnaht/Versuchsdauer 15 Monate

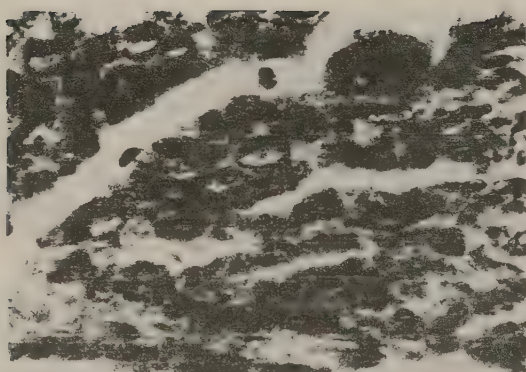
I



Querschnitt 2 cm
prox. der Naht
Vergr.: 200-fach

Befund: normale Nervenstrukturen (Fixierungsartefakte: Dehiszenz der
Endoneuralsepten)
zahlreiche Nervenfaserschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
normale Axon-Markscheiden-Relationen
kein Anhalt für überdimensioniertes Neurom oder degenerative
Veränderungen
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

II

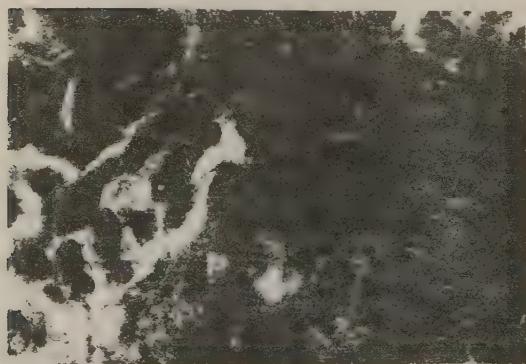


Querschnitt 1 cm
dist. der Naht

Vergr.: 200-fach

Befund: sehr gut reinnerviertes distales Segment
zahlreiche Nervenfaserschnitte nach dem normalen
Faserdurchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
normale Axon-Markscheiden-Relationen
kein Anhalt für überdimensioniertes Neurom oder Nerven-
faseraberration
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

III



Querschnitt 3 cm
dist. der Naht

Vergr.: 200-fach

Befund: sehr gut reinnerviertes distales Segment
zahlreiche Nervenfaserschnitte nach dem normalen Faser-
durchmesserspektrum (A-, B-, C-Fasern)
Axon-Markscheiden-Relation leicht zugunsten der Axone
kollagenes Bindegewebe um die Hanken-Büngner'schen Bänder
leicht vermehrt
intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation
endoneurale Vaskularisation

Zusammenfassende Bewertung zu Punkt 1 der Krücke'schen Kriterien:

Es wurden in allen Interponaten und den zugehörigen distalen Segmenten regenerierte Nervenfasern nachgewiesen.

Dabei betrug bei guter Reinnervation wie in den Versuchen A und B die Gesamtfaszikalfläche des distalen Stumpfes etwa 85 - 90 % derjenigen des proximalen Stumpfes, d.h. mindestens 85 % der Nervenfasern des proximalen Stumpfes erreichen das distale Segment. Auch fanden sich bei guter Reinnervation wie in den Versuchen A und B im distalen Stumpf das typische Nervenfaserspektrum mit A- (3-20 mü), B. (bis 3 mü) und C-Fasern (1 mü) und in jeweiliger Relation zu den Axonkalibern voll ausgereifte Markscheiden. Bei guter Reinnervation besteht also histologisch eine gänzliche Übereinstimmung zwischen Querschnitten des proximalen und distalen Segments, wobei einzig eine geringfügige Verringerung der Gesamtfaszikelfläche distal zu erwähnen ist.

Diese Resultate wurden auch bei sachgerechter Primärnaht erreicht, wie Versuch E zeigt.

Die spärliche Reinnervation des distalen Segments in Versuch D mit geringeren Faserdurchmessern und Entwicklungsrückstand der Markscheiden läßt sich evtl. auf die erheblich kürzere Versuchsdauer zurückführen. Ebenso ist die Fibrosierung des distalen Segments in Versuch C durch Überdehnung erklärbar.

Modus der Regeneration im Transplantat in Beziehung zum Perineurium (Punkt 2 nach Krücke)

Ein Erhaltenbleiben großer implantierter Faszikel und damit eine intrafaszikuläre, isomorphe Neurotisation, wie sie in den Hanken-Bügner'schen Bändern des distalen Stumpfes immer, häufig aber auch in frischen autologen und sogar in vitalen homologen Transplantaten vorkommt (Schröder und Seiffert 1970), wobei also lebende Schwann-Zellen innerhalb ihrer Basalmembranen und zugehöriges vitales Perineurium übertragen wird, liegt bei dem hier verwendeten konservierten

homologen und bis auf sein Kollagengerüst reduzierten Interponat nicht vor. Es kann innerhalb des homologen, lyophilisierten und desantigenisierten Interponats lediglich zu einer heteromorphen oder neuromatösen Neurotisation in Form neugebildeter, dicht beieinanderliegender und häufig nur durch dünne, einschichtige Perineuralsepten getrennter Miniaturfaszikel kommen. Allerdings ist eine Neubildung großer Faszikel mit Restitution des ursprünglichen Perineuriums und somit eine intrafaszikuläre neuromatöse Neurotisation (Punkt 2 a nach Krücke) bei Fällen mit guter Reinnervation häufig und gegenüber der extrafaszikulären neuromatösen Neurotisation im epineuralen Bindegewebe (Punkt 2 b nach Krücke) dominierend. Dabei ist mit Schröder und Seifert (1972) anzunehmen, daß die großen Faszikel bei nicht vitalen, konservierten Interponaten ebenso wie die Miniaturfaszikel neugebildet worden sind und sich vom proximalen Stumpf her im Ganzen auf das Interponat fortsetzten. Dabei dürften die nur noch durch ihr Kollagengerüst aufrechterhaltenen Faszikelstrukturen des Interponats wegweisend und formgebend sein, zumal bei Spontanrestitution (s.ö.), also ohne Einfügung eines Interponats, keine Neubildung größerer Faszikel beobachtet wurde. Ebenso wie die Schwann-Zellen können auch Perineuralzellen vom proximalen und distalen Stumpf aus durch die inter- und intrafaszikulären Spalträume und die endoneuralen Tunnel des Interponats einen sicheren vorgebahnten Weg finden. Danach muß eine Resorption und Substitution der Interponate durch das vom proximalen und distalen Stumpf auswachsende Nervennarbgewebe erfolgen, als unerlässliche Voraussetzung für die Reneurotisation (Bielschowsky und Unger 1917).

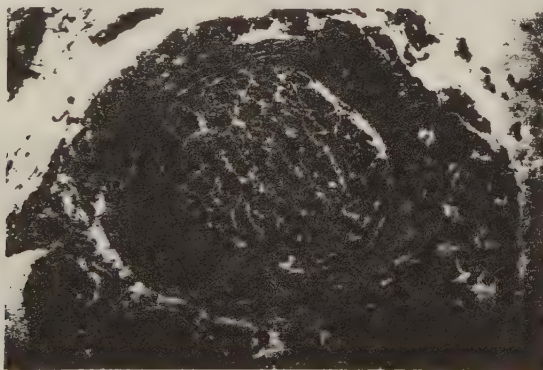
Erst bei größeren Miniaturfaszikeln läßt sich lichtmikroskopisch ein Perineurium nachweisen (Nageotte 1932, Masson 1932, Denny-Brown 1946, Lyons und Woodhall 1949) sowie oben: Versuch A II, III, IV - Versuch B II - Versuch C II). Nach Schröder hebt sich allerdings das Endoneurium neugebildeter Faszikel bei lichtmikroskopischen Untersuchungen durch seine hellere Färbung vom epineuralen Bindegewebe der Umgebung ab, weshalb man direkt auf das Vorhandensein einer perineuralen Grenzschicht schließen kann. Die neugebildeten perineuralen Zellagen großer restituerter Faszikel unterscheiden sich von den regulären durch ihre Dicke, ihre

ungleichmäßige Anordnung und ihre unscharfe Begrenzung zum umgebenden Bindegewebe, worauf auch Schröder und Seiffert hinweisen und was die These der Differenzierung von Perineuralzellen aus Fibroblasten (Nageotte 1932, Denny-Brown 1946, Thomas and Jones 1967) zu stützen scheint, so daß sowohl frisch differenzierte als auch Perineuralzellen aus den perineuralen Wucherungen (Denny-Brown) des proximalen und distalen Stumpfes zur Bildung größerer Faszikelstrukturen beitragen können.

Die im folgenden aufgeführten Histophotos sollen den Regenerationsmodus in homologen lyophilisierten Interponaten in Beziehung zum Perineurium erklären.

Versuch A: Interponat 2 cm lang/Versuchsdauer 10 Monate

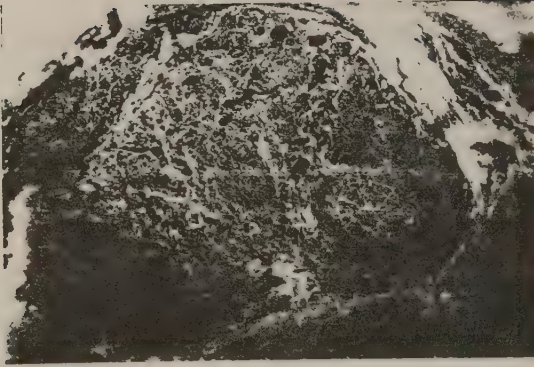
I



Querschnitt 2 cm
dist. des Interponats
Vergr.: 10-fach

Befund: typische intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation der Hanken-Büchner'schen Bänder des distalen Stumpfes
ursprüngliches Perineurium und alte Faszikelstrukturen sind vollständig erhalten
außerhalb des Perineuriums, also im Epineurium, kein Nachweis von extrafaszikulärer Miniaturfaszikelbildung
bei stärkerer Vergrößerung (siehe Blatt 25, Histophoto V) kommt ein normal strukturiertes Endoneurium mit ausgezeichneter Reuneurotisation zur Darstellung

II



Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte

Vergr.: 10-fach

Befund: im Gegensatz zu oben typische intrafaszikuläre heteromorphe (neuromatöse) Neurotisation innerhalb eines homologen, lyophilisierten Interponats
Neubildung von Perineurium und Aufbau neuer großer Faszikel
nur gering extrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation
bei stärkerer Vergrößerung (siehe Blatt 24, Histophoto III)
kommen lichtmikroskopisch Bereiche fast normal strukturierter Endoneuriums mit ausgezeichneter Reneurotisation und dicht gelagerte, longitudinal ausgerichtete Miniaturfaszikelgruppen zur Darstellung

III



Querschnitt im
Bereich der prox.
Nahtstelle

Vergr.: 10-fach

Befund: typische intrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation, wobei das Perineurium und die Faszikelstruktur vom proximalen Stumpf her als Ganzes auf das homologe, lyophilisierte Interponat übergehen
daneben auch extrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation
siehe auch bei stärkerer Vergrößerung (Blatt 24, Histophoto II)

Versuch B: Interponat 4,5 cm lang/Versuchsdauer 9 Monate

I

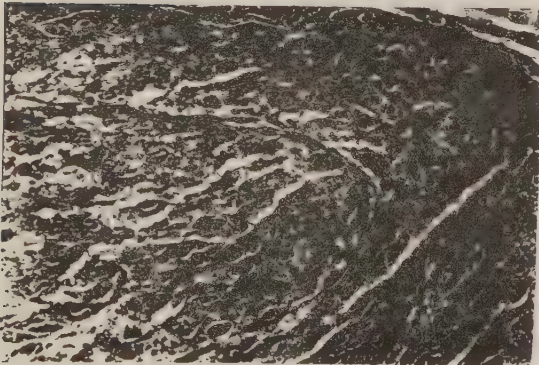


Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte

Vergr.: 40-fach

Befund: typische, dicht beieinander liegende, longitudinal ausgerichtete Miniaturfaszikel, die größere Gruppen bilden, die ihrerseits von anderen Gruppen oder vom Epineurium durch Bindegewebsgrenzlamellen (evtl. auch neu gebildetes Perineurium) getrennt scheinen

II

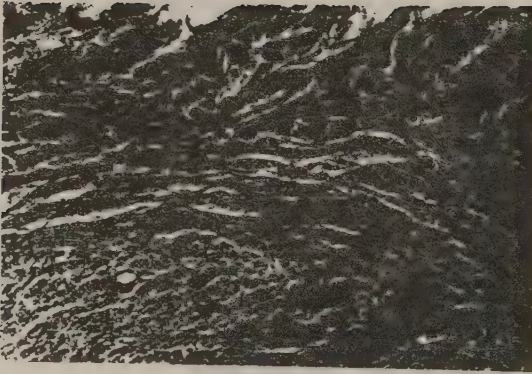


Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte

Vergr.: 25-fach

Befund: deutlich sichtbar restituiertes Perineurium und Neubildung eines großen Faszikels
intrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation
Perineurium ein- bis zweischichtig
Miniaturfaszikelgruppen
siehe auch in der stärkeren Vergrößerung (Blatt 26, Histophoto II)

III



Querschnitt im
Bereich der Inter-
ponatmitte
Vergr.: 25-fach

Befund: Sektorenausschnitt aus einem neugebildeten großen Faszikel
restituiertes, deutlich vielschichtiges und vom umgebenden
Bindegewebe unscharf abgegrenztes Perineurium
intrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation
extrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation
vereinzelt sogar Miniaturfaszikel zwischen den Lamellen
des Perineuriums

Zusammenfassende Bewertung zu Punkt 2 der Krücke'schen Kriterien:

In den beiden Versuchen mit guter Neurotisation des homologen lyophilisierten Interponats und guter Reinnervation des distalen Segmentes (Versuche A und B) fand sich eine überwiegende intrafaszikuläre heteromorphe (neuromatöse) Neurotisation, was unter Punkt 2 a der Beurteilungskriterien nach Krücke einzureihen ist. Hierbei haben sich innerhalb der Interponate große Faszikel mit zugehörigem Perineurium neu formiert. Eine isomorphe Neurotisation, bei der der strukturanatomisch genuine Aufbau des peripheren Nerven vorliegt, ließ sich nicht innerhalb der Interponate, jedoch erwartungsgemäß in den distalen Segmenten nachweisen. Neben dieser Neurotisationsform fand sich in den Versuchen A und B auch in geringem Maße extrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation in Form epineuraler Miniaturfaszikel.

Im Versuch C kam es nur zu extrafaszikulärer Neurotisation mit Bildung von Miniaturfaszikeln bei allgemeiner Fibrosierung des Interponates, was in diesem Falle auf Überdehnung zurückzuführen sein dürfte. Die Einstufung erfolgt hier unter Punkt 2 b.

Auch im Versuch D zeigt sich lediglich eine extrafaszikuläre Neurotisation in Form von Miniaturfaszikeln und Miniaturfaszikelgruppen, wobei auch hier die Einstufung unter Punkt 2 b erfolgt. Es darf angenommen werden, daß die Versuchsdauer zu kurz war und somit noch keine Reneurotisation erfolgt war.

Der Versuch E erbrachte, ähnlich wie die Versuche A und B, eine vorwiegend intrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation im Bereich der neuro-matös veränderten Nahtstelle - daneben auch extrafaszikuläre Neurotisation.

Revaskularisation der Transplantate (Punkt 3 nach Krücke)

Bei allen Transplantationen und bei der Primärnaht war die endoneurale Kapillararchitektur in den distalen Segmenten erhalten geblieben.

Im Versuch E (Primärnaht) blieb sie auch im neuromatös veränderten Nahtbereich erhalten. Eine Einstufung erfolgt hier unter Punkt 3 a der Beurteilungskriterien.

Innerhalb der gut neurotisierten Interponate (Versuch A und B) lag eine Neubildung von Kapillaren in den größeren restituierten Faszikeln vor (Einstufung unter Punkt 3 b nach Krücke), wo sich lichtmikroskopisch fast ein normal strukturiertes Endoneurium gebildet hatte. Eine endoneurale Vaskularisation scheint nahezuliegen (siehe Blatt 24, Histophoto III); andererseits gibt es hier auch Bezirke, in denen der strukturelle Aufbau in Form dicht beieinanderliegender Miniaturfaszikel, die von neu gebildetem Perineurium umschlossene größere Gruppen bilden (größere neugebildete Faszikel), deutlicher wird. Hier handelt es sich dann um die typische inter- oder perifaszikuläre Vaskularisation außerhalb der Miniaturfaszikel (Einstufung unter Punkt 3 c nach Krücke), wobei die Diffusion bis zum Axon hin durch insgesamt 3 Diffusionsbarrieren (Blutnervenschanke, Perineurium, Basalmembran und Schwann'sche Zellen) erfolgen muß.

Diese Vaskularisationsform fand sich auch in den Versuchen C und D.

Innerhalb von Miniaturfaszikeln, auch wenn sie größer erschienen, konnten keine Gefäße nachgewiesen werden. Der kleinste je beobachtete Faszikel, der ein Gefäß beinhaltete, enthielt (Schröder, 48) 9 markhaltige und mehrere marklose Nervenfasern.

Auf der folgenden Seite wird nun an Hand einer Tabelle ein vergleichender Gesamtüberblick über die bisher dargelegte Dokumentation zur lichtmikroskopischen Beurteilung des anatomischen Regenerationserfolges bei 4 tierexperimentell angewandten homologen, lyophilisierten Interponaten und 1 Primärnaht gegeben. Vergleiche auch die von Krücke vorgeschlagenen Beurteilungskriterien auf Blatt 11 und 12.

Punkt 1: REGENERIERTE NERVENFASERN IM DIST. SEGMENT	VERSUCH A	VERSUCH B	VERSUCH C	VERSUCH D	VERSUCH E
	2 cm lang 10 Monate	4,5 cm lang 9 Monate	4,5 cm lang 5 Monate	4,5 cm lang 3,5 Monate	Primärnaht 15 Monate
a) Zahl	massenhaft (85 - 90 %)	massenhaft (85 - 90 %)	vereinzelt	vereinzelt	massenhaft
b) Axonkaliber	A-, β -, C-Fasern	A-, β -, C-Fasern	wesentlich dün- ner als prox.	dünner als prox.	A-, β -, C-Fasern
c) Markscheidendicke	nur minimal dünner als prox.	nur minimal dünner als prox.	wesentlich dün- ner als prox.	wesentlich dün- ner als prox.	nur minimal dünner als prox.
Punkt 2: MODUS DER REGENERATION IM TRANSPLANTAT IN BEZIEHUNG ZUM PERINEURIUM					
a) intrafaszikulär isomorph	fehlend	fehlend	fehlend	fehlend	vorwiegend
intrafaszikulär heteromorph	vorwiegend	vorwiegend	fehlend	fehlend	fehlend
b) extrafaszikulär in Form von epineuralen Miniaturfaszikeln	geringfügig	geringfügig	spärlich	spärlich	fehlend
Punkt 3: REVASKULARISATION DER INTERPONATE					
a) Restitution der endo- neuralen Kapillaran- chitektur in erhal- tenen oder	fehlend	fehlend	fehlend	fehlend	durchgehend
b) restituierten Faszikeln	fraglich	fraglich	fehlend	fehlend	fehlend
c) Inter- oder perifazi- kuläre Vaskularisation außerhalb der Minia- turfaszikeln	in der Regel vorhanden	in der Regel vorhanden	ausreichend vorhanden	ausreichend vorhanden	fehlend

DISKUSSION

Das Ergebnis der hier vorliegenden Untersuchung ist der experimentelle Nachweis, daß es bei Verwendung homologer, lyophilisierter Interponate zur Neurotisation und in den distalen Nervenstümpfen zur Reinnervation kommt. Der anatomische Regenerationserfolg wurde nach den von Krücke (27) geforderten Kriterien beurteilt (siehe Übersichtstabelle auf Blatt 41).

Unter den insgesamt 4 durchgeführten Implantationen fanden sich 2 sehr gute Resultate (Versuche A und B). Die beiden anderen Versuche zeigten ein unzureichendes Ergebnis (Versuche C und D). Der Kontrollversuch E (sofortige Primärnaht nach scharfer Durchtrennung) entsprach den Ergebnissen der Versuche A und B.

Elementare Voraussetzung für die Beurteilung des Erfolges jeglicher Nerventransplantation ist: 1. eine sachgemäße chirurgische Technik (absolute Spannungsfreiheit, plane Schnittflächen, Faszikelzuordnung, Verhinderung der Bildung eines dreidimensionalen Fibringerinnsels an den Schnittflächen), 2. die strikte Einschränkung der Motilität in den ersten beiden Wochen und 3. eine angemessene Versuchsdauer (zumindest 5 Monate). In den Versuchen A und B waren diese Bedingungen erfüllt, ebenso im Versuch E. Die beiden unzureichenden Ergebnisse lassen sich durch zu frühzeitige Mobilisation mit erhöhter Nahtspannung (Versuch C) und einer zu kurzen Versuchsdauer (Versuch D) erklären. Trotzdem ist auch in diesen Fällen ein Nervenfaserverwachsung im Interponat und distal davon nachweisbar, wenn dies auch zu einem funktionell und anatomisch unzureichendem Ergebnis führte. Grundsätzlich empfiehlt es sich wegen der Retraktion, in extremer Streckstellung zu operieren (s.o. methodischer Teil), wobei wir in den Versuchen A und B Interponate einsetzten, die zudem noch über die Ausdehnung der Defektlücken hinweggingen. Eine optimale Spannungsfreiheit war hiermit gewährleistet.

Als Versuchstiere dienten gemischtrassige Hunde mit einem Durchschnittsgewicht von 20 kg. Der Vorteil gegenüber anderen Versuchstieren (Kaninchen) lag in dem großen Durchmesser des Nervus ischiadicus, weshalb für die Epineuralnähte ein Operationsmikroskop nicht benötigt wurde. Hierfür muß-

ten aber auch Nachteile gegenüber von anderen Arbeitsgruppen verwendeten Tieren (Kaninchen lassen sich auf engstem Raume halten, was die Mobilität sehr einschränkt) in Kauf genommen werden.

In den Fällen mit guter Regeneration (Versuche A und B) fanden sich zahlreiche regenerierte Nervenfasern im distalen Segment, wobei angenommen werden darf, daß die Faszikelfläche im distalen Nervenabschnitt mindestens 85 % derjenigen im proximalen Abschnitt betragen. Dieser Befund wurde auch durch andere Autoren (45) bestätigt. Sie haben ebenfalls im Tierexperiment Versuche mit homologen lyophilisierten Interponaten durchgeführt und mit Hilfe des Leitz-Classimat (Gerät zur optischen Bilddatenerfassung) die Faszikelflächen proximal und distal ermittelt. Bei der Hochrechnung der Zahl markhaltiger Nervenfasern fanden sich ebenfalls Werte im distalen Stumpf von 84 % (Kaninchen nach 4,5 Monaten Versuchsdauer). Die Kaliberstärke der Axone in unseren ersten beiden Versuchen wurden lichtmikroskopisch in die Gruppen der A- (3-20 mü), B- (bis 3 mü) oder C- (1 mü) Fasern eingereiht. In den distalen Stümpfen fanden wir gegenüber den proximalen keine Verschiebungen zugunsten dünnerer, kaliberschwächerer Fasern. Lediglich die Markscheiden erschienen etwas dünner als proximal. Der Regenerationsmodus in Beziehung zum Perineurium ist eine vorwiegend intrafaszikuläre heteromorphe Neurotisation (Versuche A und B) mit nur vereinzelten extrafaszikulären Miniaturfaszikeln im epineuralen Gewebe (allerdings vermehrt in den Versuchen C und D). Für konservierte Transplantate ist dies als Optimum anzusehen, da eine intrafaszikuläre isomorphe Neurotisation sonst nur bei erhaltenen Hanken-Büngner'schen Bändern möglich ist. Diese Hanken-Büngner'schen Bänder sind im strukturanatomisch genuinen Verband distaler Stümpfe oder höchstens noch in den bei Revaskularisation überlebenden Faszikeln frischer Transplantate (autolog oder homolog) vorhanden.

Neben den Miniaturfaszikeln vorkommende große neuformierte Faszikel, die bei guter Reinnervation der Interponate dominieren, gehen (50) als Ganzes vom proximalen Stumpf auf die Schaltstücke über. Hierbei dienen die noch durch ihr Kollagengerüst aufrecht erhaltenen Faszikelstrukturen der Interponate als Leitschienen. Bei diesen neuromatösen Neurotisa-

tionsmustern haben wir auch eine Ausbildung völlig neugestaltiger perineuraler Septen (lichtmikroskopisch oft schwer von Bindegewebsfaserzügen zu unterscheiden) beobachtet.

Diese zwischen den einzelnen Gruppen regenerierten Nervenfasern (Miniaurfaszikelgruppen) wurden von Thomas und Jones auch bei Spontanrestitution ohne Einfügung eines Interponates beschrieben. Die Anwendung homologer, lyophilisierter Interponate bestätigt dies in ausgeprägtem Maße (siehe Blatt 37, Histophoto I). Die neugebildeten perineuralen Zellagen der großen Faszikel oder der Miniaturfaszikelgruppen unterscheiden sich vom regulären Perineurium durch ihre Dicke und ihre verwaschene Abgrenzung vom umgebenden Bindegewebe (siehe Blatt 38, Histophoto III), worauf Schröder und Seiffert (48) ebenfalls hinweisen. Hierbei ist anzunehmen, daß sie ihren Zellbestand sowohl vom proximalen Stumpf her (Denny-Brown-1946-perineurale Wucherungen) als auch durch Differenzierung aus Fibroblasten (Denny-Brown-1946-neurale Fibroblasten/Nageotte-1932/Gamble und Breathnach-1965/Thomas und Jones-1967) beziehen. Elektronenmikroskopisch lassen sich dabei Zwischenformen von Fibroblasten und Perineuralzellen finden. Die Erhaltung des Restkollagens bei homologen, lyophilisierten Interponaten ist notwendig zur Wahrung der Kontinuität des Nerven und zur Bahnung proliferativer Vorgänge vom proximalen und distalen Stumpf aus. Es darf daher nicht zu früh durch Phagozyten resorbiert werden. Sind die Septen zu kompakt und für Diffusionsvorgänge nicht durchlässig, so wird das Einsprossen von Gefäßen gehemmt und die Ernährung der einwachsenden Schwann-Zellen gefährdet. Dies kann zur Sklerosierung (Fibrosierung) des Interponatinnenraumes führen. Bei allen bisher durchgeführten Untersuchungen mit devitalen Interponaten (59, 5, 13, 6, 36, 20, 46, 16, 66, 4, 2) wird die Substitution der Schaltstücke durch Nervennarbgewebe als unerläßliche Voraussetzung für die Neurotisation angesehen. Das Nervennarbgewebe enthält eine Vielzahl der Zellelemente eines peripheren Nerven (55, 56). Es darf nicht als hemmend angesehen werden, sondern ist als bereitgestelltes Zellmaterial zu verstehen; das dem stark formativen Einfluß der auswachsenden Axonsprosse (growth cones) unterliegt. Schröder und Seiffert berichten in ihrer Arbeit über die neuromatöse Neurotisation von Nerventransplantaten,

daß es sich durch die von den regenerierten Nervenfasern ausgehende Induktion in endo- und perineurales Nervenbindegewebe differenziert, wobei die biophysikalischen und biochemischen Mechanismen dieser Vorgänge noch völlig ungeklärt ist. Stochdorph weist dabei auf die Analogie dieser Prozesse zur Ontogenese des peripheren Nervensystems hin.

Im Gegensatz zu diesen Resorptions- und Substitutionsvorgängen bei devitalen Interponaten, zu denen auch das von uns verwendete Interponat gehört, dienen die frischen autologen und homologen Transplantate der Vitalerhaltung der verpflanzten Zellelemente. Insbesondere müssen Schwann-Zellen erhalten bleiben, die sich zu Hanken-Büngner'schen Bändern transformieren und somit zur Ausbildung einer intrafaszikulären isomorphen Neurotisation führen. 1967 konnte Das Gupta nach Transplantation prädegenerierter homologer Transplantate noch nach 6 Wochen lebende Schwann-Zellen respektive Hanken-Büngner'sche Bänder mit dem Elektronenmikroskop nachweisen. Diese Vitalität sowohl frisch transplantierter als auch in devitale Interponate einsprossender Schwannzellen wird in erster Linie von einer adäquaten Vaskularisation gewährleistet. Bei homologen, lyophilisierten Interponaten war die Anordnung der Gefäße so, daß sie zwar innerhalb der großen, von neugebildeten Perineurallamellen umgebenen Gruppen regenerierter Miniaturfaszikel lagen, allerdings nie in den Miniaturfaszikeln selbst, so daß bei neuro-matöser Neurotisation von peri- und interfazikulärer Vaskularisation um die Miniaturfaszikel herum gesprochen werden muß, wobei die Reihenfolge der Diffusionsbarrieren bis zur Schwann-Zelle folgendermaßen lautet: 1. Blutnervenschranke, 2. Perineurium, 3. Basalmembran und 4. Schwann-Zelle (53). Allerdings sieht es da, wo Faszikelstrukturen vom proximalen Stumpf her auf das Interponat übergehen so aus (siehe Blatt 24 Histophoto III), als wäre hier auch eine restituierte endoneurale Vaskularisation möglich.

Neben der Voraussetzung eines reichhaltigen Nervenbindegewebes ist für die Regeneration am wichtigsten das Vorhandensein von formativ wirkenden Axonsprossen. Untersuchungen von Nakai über die Faszikelformationen auswachsender Nervenfasern, durchgeführt in der Gewebekultur mittels

Phasenkinematographie, zeigen, daß aussprossende Fasern sich durch Lyse das umgebende Gewebe erschließen können und zu festen Oberflächen, seien es auch nur Plasmagrenzschichten, entlang wandern. Nach Harrison (1914) und Weiss (1934) sollen sie sich durch Aussendung und Retraktion seitlicher Filopodien zu Bündeln zusammenschließen, die die Eigenschaften von Adhäsion und Retraktion besitzen. Die Kraft eines sich retrahierenden Filopodiums beträgt nach diesen Versuchen mindestens 3×10^{-10} dyn. Weiterhin wurden verschiedene zelluäre und amorphe Hindernisse durch diese Filopodien abgetastet. Hierbei wurde beobachtet, daß sie sich von Fibroblasten sehr schnell wieder lösen, während sie mit Schwann-Zellen in Kontakt bleiben. Yamada und al. entwickelten aufgrund von elektronenmikroskopischen Untersuchungen Modellvorstellungen über Ultrastruktur und Funktion der Wachstumsspitzen. Befunde anderer Autoren (9) wurden von ihnen bestätigt, unter anderem auch, daß sich eine einzige Nervenfaser in zahlreiche Axonsprosse aufteilen kann. Schröder (48) hat dies als Ursache für die Hyperneurotisation angesehen. Eine Überschußproduktion an Axonen kann durch die zu Hanken-Büngner'schen Bändern formierte Schwann-Zellen kompensiert werden, allerdings nicht bei Verwendung devitalisierter Interponate. Aber auch das Phänomen der Entstehung atrophischer Axone (dicke Markscheiden bei zu dünnem Axon) läßt sich durch die von Nakai aufgestellte Theorie erklären. Bei der unruhigen Faszikulation aussprossender Filopodien sollen sich einzelne Axone zugunsten anderer wieder verschmächtigen. Außerdem kann es vorkommen, daß ein Axon in einem Schnitt noch markhaltig, in einem anderen als marklos imponiert. Schröder (48) erklärt dies mit der unterschiedlichen Verbreitung von Schwann-Zellen.

Abschließend sei auf die neuesten Ergebnisse von Singh (43) hingewiesen. Er beobachtete bei 18 Anwendungen von homologen lyophilisierten Interponaten am Menschen in 32 % der Fälle deutliche Zeichen einer Regeneration, wenn die Implantation innerhalb von 6 Wochen nach Trauma erfolgte und wenn die Länge des Interponates ungefähr 4 cm betrug. Dennoch empfiehlt er die Anwendung dieser Methode nur da, wo die Autotransplantation nicht möglich ist (Verletzungen mehrerer Nerven bei ausgedehnten Traumen, wobei ausreichendes autologes Nervenmaterial im Körper des Patienten nicht zur Verfügung steht), da diese doch bessere Ergebnisse als die Transplantation mit homologen lyophilisierten Interponaten liefert.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden periphere Nervendefekte im Tierexperiment an gemischtrassigen Hunden von einem mittleren Körpergewicht von 20 kg durch homologe, lyophilisierte Interponate überbrückt. Die Länge der Interponate betrug 2 und 4,5 cm. Operiert wurden 5 Versuchstiere, wobei eine Primärnaht und vier Nerveninterpositionen mittels Perineuralnaht durchgeführt wurden. Die Defektlängen betrugen in einem Falle 2 und in 3 Fällen 4,5 cm. Die Interponate wurden samt proximalem und distalem Stumpf nach 10, 9, 5 und 3,5 Monaten entnommen und zur lichtmikroskopischen Begutachtung aufbereitet. 2 Versuche (Versuch A: 2 cm langes Interponat über 10 Monate, Versuch B: 4,5 cm langes Interponat über 9 Monate) zeigten ein sehr gutes Regenerationsergebnis, entsprechend dem Versuch nach Primärnaht (Versuch E), während die beiden übrigen Versuche (Versuch C: 4,5 cm langes Interponat nach 3 1/2 Monaten, Versuch D: 4,5 cm langes Interponat nach 5 Monaten) wegen vorzeitiger Mobilisierung und zu kurzer Versuchsdauer unzureichende Ergebnisse erbrachten. Als histologische Parameter des Regenerationserfolges wurden die Zahl der regenerierten Fasern im distalen Stumpf, der Modus der Regeneration innerhalb der Interponate im Bezug zum Perineurium und der Modus der Revaskularisation herangezogen. Insgesamt kann gesagt werden, daß homologe, lyophilisierte und desantigenisierte Interponate bei der Überbrückung von Nervendefekten bis zu 4,5 cm im Tierexperiment an Hunden eine deutliche Regeneration mit guter Neurotisation der distalen Stümpfe zeigen, wenn die Versuchsdauer lange genug ist und eine zu frühzeitige Mobilisierung vermieden wird. Auch ist ersichtlich, daß Nerventransplantate, nicht, wie manche Autoren annehmen, vitale Schwann-Zellen enthalten müssen, um effektiv zu sein.

LITERATUR

- 1 Adams, W.E.: The blood supply of nerves
J. Anat. London 76 (1941/42)
- 2 Afanassieff, A.: Premier résultats de 20 homogreffes de nerfs
conservés par le cialit
Presse med. 75, 1409 - 1410 (1967)
- 3 Bargmann, W.: Histologie und mikroskop. Anatomie des Menschen
4. überarbeitete Auflage/Thieme-Verlag-Stuttgart
1962, S. 191 - 220
- 4 Basset, C.A., Campbell, J.B., Husby, J.: Peripheral nerve and spinal
cord regeneration. Factors leading to success
of a tubulisation technik employing Millipore
Exp. Neurol. 1, 386-406 (1959)
- 5 Bethe, A.: Zwei neue Methoden der Überbrückung größerer
Nervenlücken
Dtsch. med. Wschr. 42/43, 1-21 (1916)
- 6 Bielschowsky, M., Unger, E.: Die Überbrückung großer Nervenlücken.
Beiträge zur Kenntnis der Degeneration und
Regeneration peripherischer Nerven
J. Psychol. Neurol. (Lpz.) 22, 267-318 (1917)
- 7 Brooks, D.: Autogene Nerventransplantate zur Überbrückung
großer Defekte
Braun/Melsungen Med. Mitteilungen Band 46,
Heft 116 (1972)
- 8 Bucher, O.: Cytologie, Histologie und mikroskop. Anatomie
des Menschen
8. neu bearbeitete Auflage/Medizinischer Ver-
lag Hans Huber/ Bern-Stuttgart-Wien, S. 213 - 230
- 9 Cajal, S.R.: Degeneration and regeneration of the nervous
system, vol. I
London, Univ. Press 1928
- 10 Davis, L., Perret, G., Hiller, F., Carrol, W.: Experimental studies of
peripheral nerve injuries. III A study of
recovery of function following repair by end
sutures and nerve grafts
Surg. Gynec. Obstet. 80, 35-59 (1945)
- 11 Das Gupta, T.K.: Mechanism of rejection of peripheral nerve
allografts
Surg. Gynec. Obstet. 125, 1058-1068 (1967)
- 12 Denny-Brown, D.: Importance of neural fibroblasts in the re-
generation of nerve
Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.) 55, 171-215 (1946)

- 13 Edinger, L.: Über die Vereinigung getrennter Nerven.
Grundsätzliches und Mitteilungen eines neuen
Verfahrens
Münch.med. Wschr. 63, 225-228 (1916)
- 14 Ferner, H.: Entwicklungsgeschichte der Menschen - Rein-
hard Verlag München/Basel, 1967/10. verbes-
serte Auflage / S. 123 - 127
- 15 Gamble, H.J., Breathnach, A.S.: An electron-microscope study of human
foetal peripheral nerves
J. Anat. (Lond.) 99, 573-584 (1965)
- 16 Gutmann, E., Sanders, F.K.: Functional recovery following nerve grafts
and other types of nerve bridge
Brain 65, 373-408 (1942)
- 17 Harrison, R.G.: The outgrowth of the nerve fiber as a mode
of protoplasmatic movement
J. exp. Zool. 9, 787-846 (1910)
- 18 Hiller, F.: Nerve regeneration in grafts
J. Neuropath. clin. Neurol. 1, 5-25 (1951)
- 19 Holmes, W.: Histological observations on the repair of
nerves by autografts
Brit. J. Surg. 35, 167-173 (1947)
- 20 Huber (1920): zitiert in J.M. Schröder und K.E. Seiffert:
Die Feinstruktur der neuromatösen Neurotisa-
tion von Nerventransplantaten
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 5, 219-235 (1970)
- 21 Hyrtl, J.: zitiert bei Adams, W.E.: The blood supply of
nerves
J. Anat. London 76 (1941-42)
- 22 Huxely und Stämpfli: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie -
D. Keidel - Georg Thieme Verlage Stuttgart 1967
S. 378 - 379
- 23 Yamada, K.M., Spooner, B.S., Wessells, N.K.: Ultrastructure and function
of Growth cones and Axons of cultured nerve
cells
Journal of Cell Biology, Band 49, 614-635
- 24 Young and Sanders 1942: zitiert in J.M. Schröder und K.E. Seiffert
(1970) siehe Nr. 20

- 25 Klemm, H.: Das Perineurium als Diffusionsbarriere gegen-
über Peroxydase bei epi- und endoneuraler
Applikation
Z. Zellforsch. 108, 431-445 (1970)
- 26 Krücke, W.: Zur Morphologie der Erkrankungsformen periphe-
rer Nervenfasern
Chirurgia plastica et rekonstruktiva: Bericht
der 5. Tagung der Dt. Gesellschaft für Plast.
und Wiederherstellungschirurgie vom 14. -
17.4.1966 in München
- 27 Krücke, W.: Morphologische Pathologie traumatischer Ner-
venläsionen
Med. Mittlg. Melsungen Band 46, Heft 116,
7 - 37 (1972)
- 28 Longmire, W.P., Cannon, J.A., Weber, R.A.: General surgical problems
of tissue transplantation, erschienen in
'Preservation and transplantation of normal
tissues' p. 23. Ciba Foundation Symposium,
London: Chuchill 1954
- 29 Lubinska, L.: Axoplasmic streaming in regenerating and in
normal nerve fibers. In mechanisms of neural
regeneration. Progress in Brain Research Vol.
13,1 Amsterdam-New York: Elsevier 1964
- 30 Lyons, W.R., Woodhall, B.: Atlas of peripheral nerve injuries
Philadelphia: Saunders, S. 302
- 31 Masson, P.: Experimental and spontaeous Schwannomas
(perpheral Gliomas)
Am. J. Path. Vol. VIII, July 1932-34: 367-417
- 32 Millesi, H., Gangelberger, J., Berger, A.: Erfahrungen mit der Mikro-
chirurgie peripherer Nerven
Chirurgia Plastica et Rekonstruktiva Band 3,
Bericht der 5. Tagung der Deutschen Gesell-
schaft für Plast. und Wiederherstellungschirur-
gie vom 14.-17.4.1966 in München
- 33 Millesi, H., Gangelberger, J., Berger, A.: Interfaszikuläre NT mit Hil-
fe der Mikrochirurgischen Technik
Int. Kongress Berichte - Exerpta media Found.
Amsterdam 4. Int. Kongress Plast. Reconstr.
Surg. Rom. 1967
- 34 Millesi, H., Meissl, G., Berger, A.: The Interfaszikular Nerve-
Grafting of Median and Ulnar Nerves
The Journal of Bone and Joint Surgery, Vol.
54-A No. 4, June 1972
- 35 Millesi, H.: Indikation und Technik der autologen und
interfaszikulären Nerventransplantation
Melsunger Med. Mittlg. Band 116 - Heft 116
181-189 (1972)

- 36 Nageotte, J.: Sheaths of the peripheral nerves. Nerve degeneration and regeneration p. 189-239, In W. Penfield, Cytology and cellular pathology of the nervous system 1. New York: P.R. Hoeber 1932
- 37 Nakai, J., Kawasaki, Y.: Studies on the mechanism determining the course of nerve fibers in tissue culture 1. The reaktion of the growth cone to various obstruktionen Z. für Zellforsch. 51, 108-122 (1959)
- 38 Nakai, J.: Studies on the mechanism determining the course of nerve fibers in tissue culture 2. The mechanism of fasciculation Z. für Zellforsch. 52, 427-449 (1960)
- 39 Olsson, Y., Reese, T.S.: Permeability of vasa nervorum and perineurium in mouse sciatic nerve studied by fluorescence and electron microscopy J. Neuropath. exp. Neurol. 30, 105-119 (1971)
- 40 Peters, A., Muir, A.R.: The relationship between axons and Schwann cells during development of peripheral nerves in the rat Quart. J. exp. Physiol. 44, 117 (1959)
- 41 Quenu et Lejars: zitiert bei Adams, W.E.: The blood supply of nerves J. Anat. London 76 (1941/42)
- 42 Rexed, B.: Über die Aktivität der Schwann Zellen bei der Nervenregeneration. 1. Die Oberbrückung neurit- loser Nervenlücken Z. Mikr.-Anat. Forsch. 51, 177-205 (1942)
- 43 Singh, R. und de Lange, S.A.: Experience with Homologous Lyophilised Nerve Grafts in the Treatment of Peripheral Nerve Injuries Acta Neurochirurgica 32, 125-130 (1975)
- 44 Samii, M., Kahl, R.J.: Klinische Resultate der autologen NT - Melsunger Med. Mittlg. Band 46, Heft 116, 197-203 (1972)
- 45 Samii, M., Schürmann, R., Wallenborn, R., Scheinpflug, W.: Tierexperimentelle Untersuchungen über auto- loge und homologe NT Melsunger Med. Mittlg. Band 46, Heft 116, 333-341, (1972)
- 46 Sanders, F.K., Young, J.Z.: The degeneration and reinnervation of grafted nerves J. Anat. (London) 76, 143-166 (1942)

- 47 Schnell, J.: Aufbereitung von Nerven als Interponate
Melsunger Med. Mittlg. Band 46, Heft 116
271-279 (1972)
- 48 Schröder, J.M., Seiffert, K.E.: Die Feinstruktur der neuromatösen
Neurotisation von Nerventransplantaten
Virchows Arch. Abtlg. B Zellpath. 5,
219-235 (1970)
- 49 Schröder, J.M.: Zur Feinstruktur der Degeneration und Regenera-
tion im peripheren Nerven
Melsunger Med. Mittlg. Band 46, Heft 116,
37-53 (1972)
- 50 Seddon, H.J.: Three types of nerve injuries
Brain 66, 237 (1943)
- 51 Seddon, H.J.: The use of autoneous grafts for the repair
of large gaps in peripheral nerves
Brit. J. Surg. 35, 151-166 (1947)
- 52 Stochdorph, O.: Ober Gewebsbilder von Tumoren der peripheren
Nerven
Acta Neuropathologica 4, 245-266 (1965)
- 53 Stochdorph, O.: persönliche Mitteilung
- 54 Thomas, E.: Histotopochemie und Histopathochemie des
peripheren Nervensystems bei Verletzungen
und Tumoren. Veröffentlichungen aus der
Morphologischen Patho., Heft 80
G. Fischer Verlag, Stuttgart (1969)
- 55 Thomas, P.K.: The cellular response to nerve injury
1. The cellular outgrowth from the distal
stump of transected nerve
J. Anat. London (1966) 100, 2, pp. 287-303
- 56 Thomas, P.K., Jones, D.G.: The cellular response to nerve injuries.
2. Regeneration of the perineurium after nerve
section
J. Anat. (1967), 101,1, pp. 45-55
- 57 Stark, D.: Embryologie (2. Auflage) G. Thieme Verlag
Stuttgart, S. 385-408
- 58 Tarlov, I.M., Epstein, J.A.: Nerve Grafts: The Importance Of An Adequate
Blood Supply
J. Neurosurg. Vol. II (Jan. 1945)
- 59 Tello, F.: 1914: zitiert nach Cajal S.R. (1928)
- 60 Terry, R.D., Harkin, J.C.: Regenerating peripheral nerve sheaths
following Wallerian degeneration
Exp. Cell. Res. 13, 193-197 (1957)

- 61 van Bekkum, D.W., Verhoog, B.D.: Immunologie der Nerven-
transplantation
Melsunger Med. Mittlg. Band 46, Heft 116,
295-309 (1972)
- 62 Weiss, P.: In vitro experiments on the factors determining
the course of the outgrowing nerve fiber
J. exp. Zool. 68, 393-448 (1934)
- 63 Weiss, P.: Differential growth, in: The chemistry a.
Physiology of growth (A.K. Parpart ed.)
pp 135-186 Princetown, Princetown University
Press 1949
- 64 Weiss, P.: The deplation of fragments of nervous system
in amphibians- 1. Central reorganisation a.
the formation of nerves
J. exp. Zool. 113, 397-462 (1950)
- 65 Weiss, P. a. Wand, H.: Transformation of adult Schwann-cells into
macrophages
Proc. soc. exp. Biol. (Med.) 58: 273-75 (1943)
- 66 Weiss, P. a. Taylor A.C.: Repair of peripheral nerves by grafts of
frozen-dried nerves
Proc. soc. exp. Biol. (New York) 52: 326-328
(1943)
- 67 Wetzstein, R. und Schulte-Wrede, S.T.: Feinstruktur von Nervenkonser-
ven
Melsunger Med. Mittlg. Band 46, Heft 116, 279-
295 (1972)
- 68 Loew, F.: Die Nervennaht und die Deckung von Nervendefek-
ten bei dem Verschluß akzidenteller und opera-
tiv gesetzter Wunden
Chir. plast. et reconstruct. Band 5: 137-141
(1967)
- 69 Bsteh, F.X.: Experimentelles zur Frage der zweizeitigen
Nerveninterplantation
Zentralblatt für Neurochir. Heft 1: 23-28 (1953)
- 70 Bushe, K.A., Duensing, F., Gerl, A., Güttler, G., Löser, R.,
Meier, A., Peterson, E., Sollmann, H.: "Nachuntersuchungen mit homologen
Transplantaten überbrückter peripherer Nerven-
verletzungen"
Zeitschrift für Neurologie, Band/Vol. 206,
S. 129 (1974)

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Oberarzt Dr. med.W.Jacoby, Neurochirurgische Univ. Klinik München, für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente,

Herrn Dr.med.B. Mackert, ehem.wiss.Ass. der Neurochirurgischen Univ.Klinik München, für die Anleitung und Unterstützung bei der Durchführung der Experimente,

Herrn Prof.Dr.med.W. Brendel, Direktor des Institutes für Experimentelle Chirurgie der Univ. München, für die Möglichkeit, in seinem Institut die Tierversuche durchführen zu können,

Herrn Prof.Dr.med.O. Stochdorph, Vorstand des Institutes für Neuropathologie der Univ. München, für die erwiesene Hilfsbereitschaft, die exakte Anleitung und die Einführung in die Methodik und das Stadium der histologischen Befunde,

Herrn Prof.Dr.med.F. Marguth, Direktor der Neurochirurgischen Klinik der Univ. München, für die Hilfe bei der Fertigstellung der Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 5.10.1947 wurde ich, Gerd Jennerwein, in Blieskastel/Saar als Sohn von Robert Jennerwein und seiner Ehefrau Cäcilia, geb. Scherer, geboren.

Nach Besuch der Volksschule Blieskastel, des Real-Progymnasiums Blieskastel und des Realgymnasiums Homburg/Saar legte ich im Herbst 1966 die Reifeprüfung ab.

Im SS 67 begann ich an der Universität Saarbrücken das Studium der Medizin. Nach dem Physikum wechselte ich im WS 69/70 zur T.-U.-München über, wo ich im Herbst 1972 das Medizinische Staatsexamen ablegte.

Ich war danach als Medizinalassistent tätig in der Chirurgischen Abteilung des Rotkreuzkrankenhauses München, in der Medizinischen Abteilung des Klinikums Westend der Freien Universität Berlin und in der Gynäkologischen Abteilung des Klinikums Steglitz der Freien Universität Berlin.

Seit August 1976 bin ich Assistent der Inneren Abteilung im Deutschen Herzzentrum München.

